UNTERSUCHUNGEN ZUR METHODIK DER BESTIMMUNG DER "DYNAMISCHEN THROMBOZYTENADHÄSION" IN VITRO BEI GESUNDEN UND BEI PATIENTEN MIT VON WILLEBRAND-JÜRGENS-SYNDROM

Klaus Grosspeter

1968

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545802_0026

Aus der I.Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. H. Schwiegk

UNTERSUCHUNGEN ZUR METHODIK DER BESTIMMUNG DER "DYNAMISCHEN THROMBOZYTENADHÄSION" IN VITRO BEI GESUNDEN UND BEI PATIENTEN MIT VON WILLEBRAND-JÜRGENS-SYNDROM

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Klaus Grosspeter

aus Köln

München 1968

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Prof. Dr. R. MARX
Korreferent: Prof. Dr. H. SCHWIEGK
Dekan: Prof. Dr. F. HOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 2.April 1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Seite

I. EINLEITUNG 1

II. EXPERIMENTELLER TEIL 1

A. Untersuchungen zur Methodik der dynamischen Adhäsion in vitro bei Gesunden mit normaler Blutungs- und Gerinnungszeit 3

1. Messung der Thrombocytenadhäsion 3
2. Bestimmungen der Thrombocytenadhäsion in vitro und in vivo 4
3. Eigene Untersuchungen der dynamischen Adhäsion in vitro 10

a: Nach der von Hellem beschriebenen Methode 10

b: Nach einer Modifizierung der Hellem'schen Methode durch Veränderung der Glasperlen und der Kontaktzeit 13

4. Zusammenfassung 20

B. Die Abhängigkeit der dynamischen Adhäsion und Agglomeration der Thrombocyten von verschiedenen Substraten und der Temperatur 21

1. Die Bedeutung der Erythrocyten für die dynamische Adhäsion in vitro 21
2. Der Einfluß von ADP auf die dynamische Adhäsion in vitro 24
3. Der Einfluß von Novocain auf die Agglomeration 28
4. Die Wirkung des Kälteschocks auf die dynamische Adhäsion 29

Seite

5. Die Abhängigkeit der dynamischen Adhäsion vom Ca^{2+}-Ionengehalt 31
6. Die Bedeutung des Fibrinogens für die dynamische Adhäsion: 33

a: in vitro 33
b: in vivo 34
c: Bei einer Patientin mit totaler Afibrinogenämie 35
d: Bei steigender Fibrinogenkonzentration in vitro 36

C. Bestimmung der dynamischen Adhäsion bei Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom 39

D. Vergleich der dynamischen Adhäsion bei einer Patientin mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom vor und nach der Therapie mit Cohn-Fraktion I 52

III. DISKUSSION 54

IV. ZUSAMMENFASSUNG 63

Literaturverzeichnis 66

I. EINLEITUNG

Daß die 1842 von Donné entdeckten und zuerst "GLOBULINS" genannten "KLEINEN KÜGELCHEN IM BLUT" für die Funktion der Blutgerinnung unentbehrlich sind, stellten als erste Hayem (1878) und Bizzozero (1882) fest. 1901 gab ihnen Dekhuyzen nach ihrer Hauptfunktion den Namen Thrombocyten.

Zu Beginn der dreißiger Jahre fand R. Jürgens bei einer Nachuntersuchung der von v. Willebrand 1924 untersuchten Bluter auf den Åaland-Inseln im Bottnischen Meerbusen einen pathologischen Thrombometertest, worauf er die Krankheit als "Thrombopathie" bezeichnete. Nach der Analyse dieses Testes war er - vom heutigen Standpunkt aus - nicht in der Lage, zwischen Plättchen und Plasmadefekt zu differenzieren.

Begegnen wir in der Praxis einem Patienten mit verlängerter Blutungszeit, so kommen heute differentialdiagnostisch vor allem folgende Krankheiten in Betracht:

1) Die Thrombopenie (Purpura haemorrhagica thrombopenica),
2) die Thrombasthenie Glanzmann,
3) Gefäßalterationen und die
4) Thrombopathie v. Willebrand Jürgens (vascular haemophilia Angiohämophilie, v. Willebrand Jürgens-Syndrom).

Für die letztere scheint uns der Ausdruck v. Willebrand Jürgens-Syndrom der geeignetste.
Eine ausführliche Zusammenstellung dieser Symptome findet sich in der Arbeit von B. BRÜGEL (1) aus dem Labor von R. Marx. Erwähnt sei auch die Bezeichnung von R. MARX (2): "Dominant erbliche Hämophilie mit verlängerter Blutungszeit und Verminderung der Faktoren VIII, IX, bzw. VIII und IX", da in dieser Bezeichnung die häufigsten und wesentlichsten Kennzeichen zum Ausdruck kommen.

Ob und wie weit es sich beim v. Willebrand Jürgens-Syndrom um eine reine, nur die Thrombocyten betreffende Anomalie handelt, ist bis heute noch ungeklärt.

Seit den elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Thrombocyten von Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom von SCHULZ, JÜRGENS und HIEPLER (3) ist uns jedoch bekannt, daß Anomalien der Granula in diesen Thrombocyten auftreten können. Wieweit diese jedoch mit einer Thrombocytenfunktionsstörung zusammenhängen, bedarf noch der Klärung.

Eine wesentliche Eigenschaft der Thrombocyten, nämlich die Fähigkeit, an körperfremden Oberflächen zu adhärieren, wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, zuerst bei gesunden Personen und anschließend bei Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom mit dem Ziel, eine möglichst einfache und zu reproduzierbaren Ergebnissen führende Methode zu finden, die eine eindeutige Aussage über pathologische Veränderungen der Thrombocytenadhäsion (in vitro) - einer für die Hämostase wichtigsten Funktion der Thrombocyten - zuläßt.

II. EXPERIMENTELLER TEIL

A. Untersuchungen zur Methodik der dynamischen Adhäsion in vitro bei Gesunden mit normaler Blutungs- und Gerinnungszeit

1. Messung der Thrombocytenadhäsion

Die Adhäsion der Thrombocyten wird indirekt gemessen, indem man die Plättchenzahl pro Volumeneinheit Citratblut vor und nach Passieren eines Filtersystems zählt.

Bei Verwendung von Citratplasma und Novocain arbeiteten wir nach dem Prinzip von FEISSLY und LÜDIN, in der Modifikation von S. DERLATH (4).

Mit einer Leukocytenpipette zieht man das Citratblut auf bis zur Marke 0,5 und mit 1 % Novocain bis zur Marke 11. Novocain bewirkt Hämolyse der Erythrozyten, weiterhin verhindert es die Evolution und ab einer gewissen Konzentration auch die Agglomeration von Thrombocyten.

Zwecks Hämolyse blieb das Citratblut 10' bei Zimmertemperatur in der Leukopipette. Danach wurde die Pipette aufgeschüttelt, die ersten beiden Tropfen verworfen und der dritte Tropfen in eine Neubauerzählkammer gegeben. Diese wird 15' in eine feuchte Zählkammer gelegt, damit in dieser Zeit die Thrombocyten auf den Boden der Kammer sedimentieren können. Anschließend werden 5 große Quadrate mit zusammen 80 Feldern ausgezählt und die Summe je nach Volumenprozentiger Citratverdünnung mit 1200 bzw. 1400 multipliziert. Geschieht die Zählung aus Nativblut, so muß man mit 1000 multiplizieren.

Um zu vermeiden, daß es zu Thrombocytenverlusten durch Adhäsion oder Agglomeration vor der Zählung kommt, ist es erforderlich, alle Glasgefäße sowie Glasspritzen zu silikonieren (97,5 Teile Tetrachlorkohlenstoff und 2,5 Teile Silikonöl).

Bei einem quantitativen Vergleich der Thrombocytenzahl von 20 Personen, entnommen mit Glas und silikonierten Glasgefäßen ergab sich eine Differenz von 15,1 % zu Gunsten der silikonierten Glasgefäße. Den gleichen Effekt erzielt man, wenn man an Stelle der silikonierten Glasspritzen Einmalspritzen aus Kunststoff (Braun, Melsungen) verwendet, was in einem Teil unserer Versuche geschah.

2. Bestimmungen der Thrombocytenadhäsion in vitro und in vivo

Wie schon im vorigen Kapitel erwähnt wurde, handelt es sich bei unserer, wie auch bei allen anderen bis heute angewandten dynamischen Adhäsionsbestimmungsmethoden um eine indirekte Bestimmung, da ja der Verlust der Plättchen nach der jeweiligen Bestimmungsmethode als das Maß der Adhäsion bezeichnet wird.

In dieser Tatsache liegt gleichzeitig das Hauptproblem der dynamischen Adhäsionsbestimmung, da wir nicht mit Sicherheit ausschließen können, ob nicht der Verlust der Plättchen nur auf Grund reiner Adhäsion zustande kommt, oder ob nicht auch durch Agglomeration. Aus diesem Grund diskutierten MARKUS und ZUCKER (5) die Möglichkeit, ob man bei diesen Bestimmungsmethoden nicht besser von "platelet consumption" or "disappearance" sprechen sollte.

Ausgenommen von dieser Kritik ist lediglich die Bestimmung der statischen Adhäsion nach MARX und IBROM (6), da dabei die einzelnen adhärenten Thrombocyten gezählt werden und man so mit Sicherheit aussagen kann, ob es sich um einzelliegende Thrombocyten handelt oder um Agglomerate.

Die älteste Bestimmung der dynamischen Adhäsion geht auf BAAR und SZEKELY zurück, die eine Plasmasäule in einem Glasgefäß stehen ließen und dann nach einer gewissen Zeit die Thrombo-

cyten zählten und die Differenz als durch Adhäsion verloren gegangen bezeichneten. 1930 entwickelten MORAWITZ und JÜRGENS das Kapillarthrombometer, 1941 bestimmte WRIGHT (7) die Adhäsion in rotierenden Glasrundkölbchen. MOOLTEN und VROMANN benutzten 1949 Glaswolle als Filterfläche. Eine Modifikation des Kapillarthrombometers war dann die 1957 von MARX und DERLATH (8) entwickelte Kapillaradhäsiometrie. HELLEM (9) benutzte 1960 als erster Glasperlen als Filterfläche, 1963 verfeinerte SALZMANN (10) diese Methode.

Bei unseren Untersuchungen benutzten wir die von HELLEM (9) und SALZMANN (10) verwandten Methode, deren genauere Beschreibung im folgenden Kapitel zu finden ist.

Eine Bestimmung der Adhäsion stammt aus dem Jahre 1960 von BORCHGREVINK (11). Er brachte am Unterarm mit einem eigens dafür konstruierten Messer kleine Hautschnitte in einer bestimmten Tiefe an und zählte aus dem ersten Tropfen Blut die Thrombocyten und verglich die so erhaltene Zahl mit den Thrombocyten aus dem Venenblut. MARX und LENZ (12) fanden in 2 Fällen von Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom eine verminderte Adhäsion in vivo mit der Borchgrevink'schen Methode, wenn sie nur die einzelliegenden Thrombocyten zählten, also die Agglomerate außer Acht ließen.

BORCHGREVINK (13) fand 1961 in einer Untersuchung von 18 Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom nach seiner Methode eine Abnahme der Adhäsion in vivo. Diese war um so größer, je länger die Blutungszeit war.

1964 modifizierte MUCKLE (14) die Borchgrevink'sche Methode, indem er auf die Fingerkuppe einen Tropfen Siliconöl brachte und durch diesen mit einem Hämostilett eine punktförmige Wunde stach und aus dieser die Thrombocyten zählte und mit den Thrombocyten aus dem Venenblut verglich. Er fand nach dieser

Methode unter anderem auch bei 6 Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom eine stark verminderte Adhäsion in vivo.

Daß es sich bei diesen in vivo Methoden nicht um eine reine Adhäsion handelt, ist einfach nachzuweisen. Nimmt man den ersten Tropfen Kapillarblut und stellt davon einen gefärbten Blutausstrich her, so sieht man unter dem Mikroskop deutlich neben einzelliegenden Thrombocyten starke Agglomerate, die man je nach Anzahl der ein Agglomerat bildenden Thrombocyten in einem Thrombocytenagglutinogramm - besser Agglomerogramm nach Rovatti aufteilen kann, wie dies SCHWEIGHART (15) aus dem Labor von R. Marx in ihrer Arbeit darstellte.

So würde sich auch für diese "in vivo Adhäsionsbestimmungsmethode" der Ausdruck "platelet consumption" or "disappearance" von Markus und Zucker besser eignen.

Da sich alle hier aufgezählten Untersuchungen damit beschäftigen, eine Methode zu finden, die es erlaubt, eine pathologische Funktion der Thrombocyten bei Patienten mit verlängerter Blutungszeit im weitesten Sinne, bei Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom im engeren Sinne nachzuweisen, sei auch kurz die Arbeit von VAINER und CAEN (16) aus dem Jahre 1964 geschildert.

Sie maßen photometrisch die Dichte von thrombocytenreichem Citratplasma nach Zugabe von 0,05 yADP/ccm und verglichen, wie sich diese bei gesunden Personen und bei Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom verhält. Innerhalb von 60 Sekunden hatte die Dichte bei Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom erheblich stärker zugenommen, als dies bei gesunden Personen der Fall war. Das gleiche galt für höhere Konzentrationen ADP.
Sie beschrieben diese Untersuchung als einen weiteren zusätzlichen Test für die Diagnose des v. Willebrand Jürgens-Syndrom.

Wenn wir uns in der vorliegenden Arbeit doch zur Adhäsionsbestimmung mit der indirekten Methode, also durch Plättchenverlust im dynamischen System entschlossen, so scheint uns dies insofern gerechtfertigt, als alle Aussagen nur im Vergleich von gesunden Personen mit normaler Blutungszeit zu kranken Patienten mit verlängerter Blutungszeit gemacht wurden. Ein Argument, das auch für alle anderen Untersuchungsmethoden zutrifft.

HELLEM (9) verwandte als Erster Glasperlen zur Bestimmung der dynamischen Adhäsion, um so eine maximal große Kontaktfläche zu erhalten. Seine Versuchsanordnung wurde als Grundlage zu den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit verwandt.

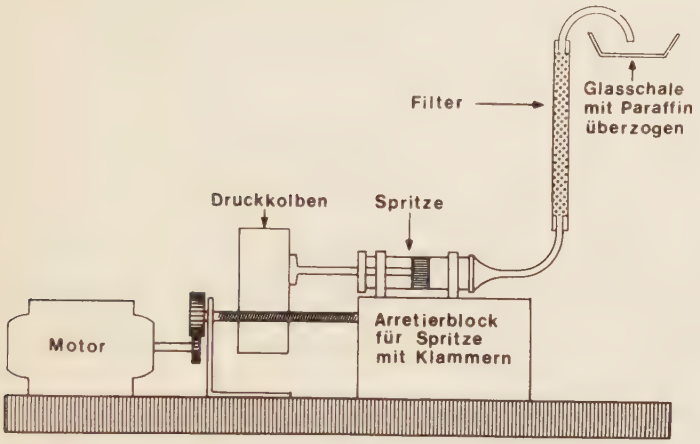
1/10 Vol.-prozentiges Citratblut (3,8 % Citrat) wird in einer 5 ccm Spritze aus der Vene aufgezogen und das Ganze in einem feststehenden Block arritiert. An die Spritze angeschlossen wird ein Filtersystem, durch welches das Citratblut mit Hilfe eines Elektromotors mit gleichbleibender Geschwindigkeit gedrückt wird. Am Ende des Filters befindet sich ein Reagenzglas, in welchem 1 ccm des filtrierten Citratblutes aufgefangen wird. Aus diesem filtrierten Citratblut werden dann die Thrombocyten gezählt und mit der Anzahl der Thrombocyten die sich vor dem Filtervorgang in dem Citratblut befanden verglichen.
Die Differenz zwischen beiden Zählungen ist das Maß der adhärenten Thrombocyten.
Der Filter besteht aus einem Kunststoffschlauch, in dem sich 5 Gramm Reflexperlen (Dragon-Werke, Bayreuth) befinden.

Beide Enden des Filters wurden mit einem Stück Seidengaze (GG 48 Dufour & Comp., Thal, Schweiz) verschlossen, um ein Herausfallen der Glasperlen zu vermeiden.

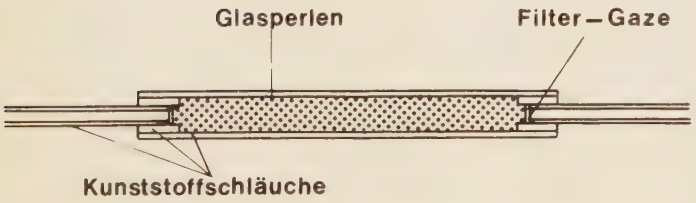
SALZMANN (10) ging bei seinen Versuchen dergestalt vor, daß

er nach Punktion der Vene an diese sofort ein Filter anschloß und das andere Ende des Filters mit einer silikonierten Vacuumspritze verband. In dieser fing er dann das gefilterte Blut auf und zählte daraus die Thrombocyten. Am anderen Arm des Patienten, bzw. der Versuchsperson, ging er gleichermaßen vor, jedoch ohne ein Filter dazwischen zu schalten. Dies war dann sein Leerwert, mit dem er den Filterwert verglich. Es handelte sich bei diesem Versuch also um eine Adhäsionsbestimmung aus Nativblut, die eine Congulationseinwirkung nicht sicher ausschließen läßt.

Versuchsanordnung zur Bestimmung der dynamischen Adhäsion in vitro



1) Abbildung des Motors



Glasperlenfilter nach Hellem

2) Abbildung des Filters

3. Eigene Untersuchungen der dynamischen Adhäsion in vitro

a: Nach der von Hellem beschriebenen Methode

Um zu prüfen, wie sich die dynamische Adhäsion der Thrombocyten nach Punktion der Vene verhält, hat bereits HELLEM (9) die Adhäsionszeitabhängigkeit geprüft und festgestellt, daß die Adhäsion bei 15 Minuten nach Punktion der Vene exterovasal ihr Maximum erreicht.
Weiterhin stellte er fest, daß mit Zunahme der Kontaktzeit auch die Adhäsion zunimmt. Die Kontaktzeit bei seinen Versuchen lag bei 30 Sekunden.

In unseren Versuchen mit der 5 ccm Spritze, die auch Hellem benutzte, betrug die Kontaktzeit 24 Sekunden. Für diese Kontaktzeit stellten auch wir einen "Extravasalstatus" (Marx) bei 20 gesunden Personen auf, um diesen dann als vergleichbaren Ausgangswert zu benutzen.
Im Gegensatz zu Hellem fingen wir die ersten zwei Tropfen des Citratblutes in einer mit Paraffin überzogenen Schale auf und zählten aus diesen die nicht adhärenten Thrombocyten.

Bei sämtlichen Adhäsionsbestimmungen in der vorliegenden Arbeit lagen die absoluten Thrombocytenzahlen der gesunden wie der kranken Personen zwischen 145 000 und 290 000 Thrombocyten pro ccm Blut.

Zu allen Untersuchungen wurde jeweils ein ganz neuer Filter verwendet, in dem sich noch unbenutzte Glasperlen befanden.

Tab. 1

Adhäsionszeitabhängigkeit in %
a: Direkt nach Punktion
b: 5' nach Punktion
c: 10' nach Punktion
d: 15' nach Punktion
e: 25' nach Punktion.

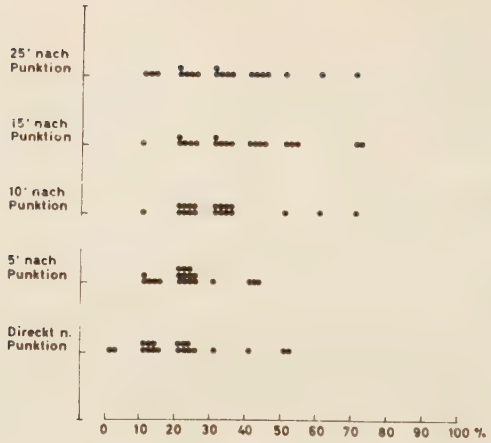
Anzahl der Personen:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a:	15,5	40,2	58,8	56,8	21,1	23,7	16,9	3,0	16,2	28,0
b:	25,4	59,1	57,8	58,4	22,3	33,0	14,4	13,7	22,8	23,0
c:	24,5	59,1	60,8	72,4	31,0	33,5	38,2	18,8	21,7	26,1
d:	28,9	49,6	70,4	77,1	32,2	47,8	45,9	16,0	32,3	23,6
e:	21,2	44,4	67,4	78,7	14,1	42,9	52,9	16,3	33,4	47,9

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
a:	26,8	24,6	6,4	14,9	23,2	15,7	20,8	30,2	18,9	12,4
b:	22,9	24,6	21,5	14,9	23,2	15,7	25,1	28,8	25,4	19,2
c:	21,0	20,3	35,0	24,0	30,1	31,8	21,8	34,6	28,9	35,8
d:	32,7	24,6	54,3	24,0	36,6	31,8	52,5	42,1	50,8	25,5
e:	21,0	27,7	30,0	21,5	35,0	34,1	21,8	30,2	40,3	19,2

Der Mittelwert für die Adhäsion, errechnet aus dem niedrigsten und dem höchsten Wert ergibt für:

	Niedrigster Wert	Höchster Wert	Mittelwert	Schwankungsbreite
a:	3,0 %	58,8 %	30,9 %	55,8 %
b:	13,7 %	59,1 %	36,4 %	45,4 %
c:	18,8 %	72,4 %	45,6 %	53,6 %
d:	16,0 %	77,1 %	46,8 %	61,1 %
e:	14,1 %	78,7 %	46,4 %	64,6 %



Tab. 1 Adhäsion in % nach Hellem

Wie aus Tab. 1 hervorgeht, konnten wir bei dieser Versuchsanordnung ebenfalls einen leichten Anstieg der Adhäsion feststellen, je länger der zeitliche Abstand zwischen Punktion der Vene und der Filtration war. Diese Adhäsionszunahme läßt sich jedoch nur am Mittelwert aller 20 Untersuchungen erkennen. Außerdem ist dies ein Mittelwert aus einer extrem großen Schwankungsbreite bei allen 5 verschiedenen Zeiten, die bestimmt wurden.

b: Nach einer Modifizierung der Hellem'schen Methode durch Veränderung der Glasperlen und der Kontaktzeit

Da ähnliche Befunde von anderen Autoren berichtet wurden (Marx, mündlich), wandelten wir die Methode dahingehend um, daß wir das Hellemfilter mit anderen Glasperlen füllten, die SALZMANN (10) bei seiner Methode benutzt hatte (Minesota Mining Co., "Superbrite", type 070). Diese Perlen haben einen erheblich kleineren Durchmesser als die von Hellem verwandten Glasperlen, wodurch sich bei Verwendung der gleichen Menge eine größere Oberfläche ergibt.

Mit dem so umgewandelten Hellemfilter und einer verlängerten Kontaktzeit, die wir dadurch erreichten, daß wir an Stelle der 5 ccm Spritze eine 2 ccm Spritze verwandten, stellten wir erneut einen Extravasalstatus auf und prüften außerdem die Adhäsion im Nativblut, indem wir das Blut aus der 2 ccm Spritze sofort nach der Punktion filtrierten.

Da die Salzmannperlen eine größere Oberfläche haben, sich in jedem Filter jedoch die gleiche Menge - 5 Gramm - befanden, waren die Filter unterschiedlich lang und so ergaben sich für jeden Filter unterschiedliche Kontaktzeiten:

Hellemfilter: Länge 27,5 cm, Kontaktzeit in der 5 ccm Spritze: 24"
" " " 2 ccm Spritze: 60"
Salzmannfilter: " 30,5 cm " " " 5 ccm Spritze: 41"
" " " 2 ccm Spritze: 77"

Um deutlich zu machen, wie groß der Unterschied zwischen den verschiedenen Perlen ist, wurde jeweils der 15 Minutenwert im Citratblut in beiden Filtern bestimmt.

Tab. 2 Extravasalstatus und Nativblutadhäsion nach unserer Methode:

	a:	b:	c:	d:	e:
1	40,2 %	55,2 %	73,0 %	41,4 %	72,1 %
2	51,2 %	68,8 %	81,3 %	44,6 %	83,7 %
3	49,1	59,6	77,2	39,2	86,4
4	62,5	74,4	90,0	42,9	82,0
5	53,4	50,0	81,9	50,7	85,8
6	56,6	53,8	69,4	52,6	89,6
7	55,0	62,2	89,8	61,3	92,2
8	65,5	68,0	80,0	60,0	89,9
9	52,1	67,3	89,4	58,7	88,2
10	62,1	69,8	85,0	46,7	86,5
11	56,6	65,9	76,6	43,5	85,6
12	31,4	75,5	78,0	68,9	89,6
13	54,1	67,0	79,5	59,8	91,2
14	48,5	66,7	81,6	54,1	83,1
15	45,7	67,0	84,1	59,8	81,9
16	49,1	61,9	82,3	61,7	83,2
17	52,0	63,4	78,6	37,2	84,5
18	49,5	52,8	72,4	40,0	88,2
19	43,4	64,4	76,8	52,8	83,4
20	41,4	56,3	71,3	52,2	87,9

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, erhalten wir: als niedrigsten und höchsten Adhäsionswert, als mittlere Adhäsion und als Schwankungsbreite folgende Werte:

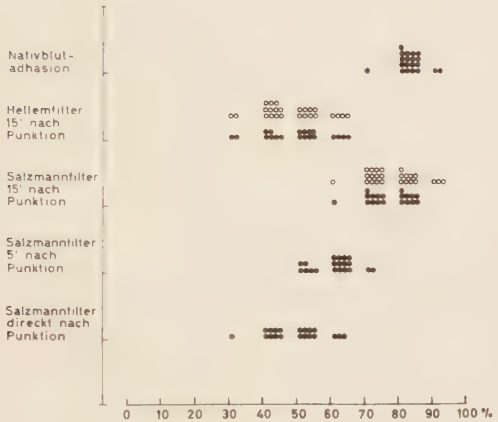
Für:	Niedrigster Adhäsionswert	Höchster Adhäsionswert	Mittelwert	Schwankungsbreite
a:	31,4 %	65,5 %	48,45 %	34,1 %
b:	52,8 %	75,5 %	64,15 %	22,7 %
c:	69,4 %	90,0 %	76,70 %	20,6 %
d:	37,2 %	68,9 %	53,05 %	31,7 %
e:	72,1 %	92,2 %	82,15 %	20,1 %

Ein weiterer Kontrollversuch, der erneute Vergleich der von Hellem und Salzmann verwandten Perlen aus Citratblut jeweils 15' nach Punktion sollte den bereits im vorausgegangenen Versuch festgestellten Unterschied noch erhärten. Die Untersuchung wurde an 25 gesunden Personen vorgenommen.

Tab. 3 1/10 Vol. % Citratblut 15' nach Punktion der Vene, Lagerung bei Raumtemperatur

	Hellemfilter	Salzmannfilter
1	41,0 %	75,0 %
2	41,4	77,5
3	45,2	88,8
4	44,9	78,5
5	37,4	69,7
6	42,5	77,0
7	40,4	72,5
8	48,0	70,9
9	40,8	80,2
10	37,1	91,4
11	49,5	92,4
12	53,3	88,8
13	55,5	89,5
14	46,5	84,4
15	66,9	89,9
16	62,1	88,0
17	55,0	96,4
18	61,1	86,2
19	53,6	78,7
20	52,8	76,9
21	57,9	83,0
22	63,5	74,8
23	57,7	74,7
24	57,4	77,2
25	47,0	77,2

	Niedrigster Adhäsionswert	Höchster Adhäsionswert	Mittel-wert	Schwan-kungs-breite
Hellemfilter:	37,1 %	66,9 %	52,0 %	29,8 %
Salzmannfilter:	69,7 %	96,4 %	84,5 %	26,7 %



Tab. 2+3 Adhasion in % nach unserer Methode
• = je eine Untersuchung aus Tab. 2
∘ = je eine Untersuchung aus Tab. 3

Die mit der verlängerten Kontaktzeit aus der 2 ccm Spritze viel geringere Schwankungsbreite in beiden Filtern muß also auf der längeren Kontaktzeit beruhen, die außerdem einen viel

geringeren Druck im Filter bewirkt.

Um dies deutlich zu machen, wurden beide Filter mit verschiedenen Kontaktzeiten verglichen.

Tab. 4 a: mit einer 2 ccm Spritze, Kontaktzeit: 60 Sekunden Hellem-Filter
Kontaktzeit: 77 Sekunden Salzmann-Filter

b: mit einer 5 ccm Spritze, Kontaktzeit: 41 Sekunden Salzmann-Filter
Kontaktzeit: 24 Sekunden Hellem-Filter

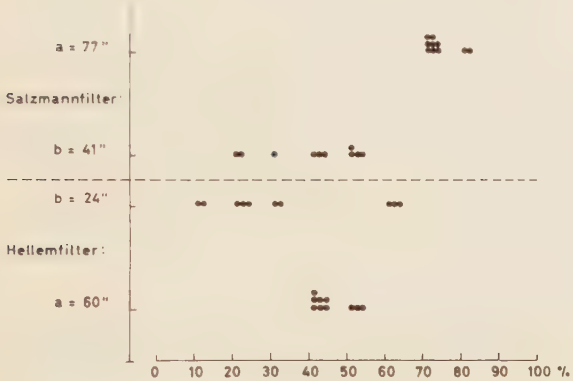
	Hellemfilter		Salzmannfilter	
	a	b	a	b
1	44,9 %	21,1 %	78,5 %	59,7 %
2	42,5	36,0	77,0	42,2
3	41,4	27,1	77,5	38,3
4	41,4	26,5	83,7	45,0
5	40,8	31,8	80,2	50,1
6	50,6	63,5	71,2	46,4
7	41,9	16,3	74,3	52,1
8	52,3	66,6	77,0	56,4
9	40,7	18,2	77,6	24,8
10	59,7	60,5	74,5	25,5

Hellemfilter:

	Niedrigster Adhäsionswert	Höchster Adhäsionswert	Mittelwert	Schwankungsbreite
a:	41,4 %	50,6 %	46,0 %	9,2 %
b:	21,1 %	63,5 %	42,3 %	41,4 %

Salzmannfilter:

	Niedrigster Adhäsionswert	Höchster Adhäsionswert	Mittelwert	Schwankungsbreite
a:	71,2 %	83,7 %	77,08 %	12,5 %
b:	24,8 %	59,7 %	42,25 %	34,9 %



Tab. 4 Unterschiedliche Kontaktzeit in beiden Filtern

4. Zusammenfassung

Bei der Wiederholung der Original Hellemmethode mit seinem Filter und den von ihm verwandten Perlen - ausgenommen seiner Kontaktzeit - fanden wir bei der Erhebung des Extravasalstatus eine erheblich größere Streubreite der Adhäsionswerte als dies bei Hellem der Fall war (Tab. 1).

Erst durch die Verlängerung der Kontaktzeit von 41,0 Sekunden in der 5 ccm Spritze auf 77,0 Sekunden in der 2 ccm Spritze für das Salzmannfilter und von 24" in der 5 ccm Spritze auf 60" in der 2 ccm Spritze für das Hellemfilter ergab sich in beiden Filtern eine Abnahme der Streubreite und zwar, wie aus Tab. 2 deutlich wird, in allen verschiedenen Adhäsionszeiten des Extravasalstatus.

Besonders auffallend ist jedoch die Differenz der beiden Filter im 15 Minuten Wert nach Punktion der Vene. Es ergibt sich danach ein Adhäsionsbereich für das

Hellemfilter von: Untere Grenze: 37,1 %
Obere Grenze: 68,9 % und für das

Salzmannfilter von: Untere Grenze: 69,4 %
Obere Grenze: 96,4 %.

Die höchsten Werte für die Adhäsion fanden wir im Nativblut, gemessen im Salzmannfilter bei einer Kontaktzeit von 77,0 Sekunden.

Untere Grenze: 72,1 %
Obere Grenze: 92,7 %
Mittelwert: 82,15 %
Schwankungsbreite: 20,1 %.

Aus Tab. 4 wird deutlich, daß in beiden Filtern mit Zunahme der Kontaktzeit:

1. die Schwankungsbreite abnimmt,
2. erst bei längerer Kontaktzeit ein Unterschied der Adhäsion in beiden Filtern deutlich wird.

Auf Grund dieser Ergebnisse führten wir bei Untersuchungen von Patienten mit verlängerter Blutungszeit immer einen Extravasalstatus im Salzmannfilter bei einer Kontaktzeit von 77,0 Sekunden durch, außerdem eine Adhäsionsbestimmung im Nativblut, ebenfalls im Salzmannfilter bei 77,0 Sekunden Kontaktzeit und eine 15 Minutenwertbestimmung im Hellemfilter bei 60,0" Kontaktzeit.

Da sich die Adhäsionsbereiche im Hellem- und Salzmannfilter lediglich berühren, aber nicht überschneiden, ergibt sich die Möglichkeit, eine Verminderung der dynamischen Adhäsion im Salzmannfilter, eine Erhöhung der dynamischen Adhäsion im Hellemfilter nachzuweisen.

B. Die Abhängigkeit der dynamischen Adhäsion und Agglomeration der Thrombocyten von verschiedenen Substraten und der Temperatur

1. Die Bedeutung der Erythrocyten für die dynamische Adhäsion in vitro

Bereits 1948 wies MARX (17) auf hämatokritabhängige Korrelationsstörungen im Blutgerinnungssystem hin, als er fand, daß die Erythrocyten bei relativer Vermehrung mechanisch manche Koagulationsteste beeinflussen.

1948 fand HUBRICH (18), eine Doctorandin von Marx, als Erste, daß frische vitale Thrombocyten in ihrem Citratplasma ohne die Anwesenheit von Erythrocyten keine, bzw. eine hämatokritabhängige Glasadhäsion im Kapillaradhäsiometer zeigen. Im gleichen

Jahr, aber später, wies dann auch HELLEM (19) dies Phänomen mit seiner Methode nach und 1960 fand KÖHL (20) dies für die Kölbchenmethode nach J. Jürgens und die Kapillaradhäsiometrie nach Marx und Derlath.

Bei der Kontrolle dieses Phänomens mit unserem Verfahren, der Verwendung von Salzmannperlen bei einer Kontaktzeit von 77,0 Sekunden, konnten wir dies bestätigen.

Die Adhäsionswerte an 5 verschiedenen Versuchspersonen ergaben direkt nach Zentrifugation (10' bei 1000 U/Min) im erythrocytenfreiem Citratplasma und 2 Stunden nach Zentrifugation eine Adhäsion von 0 %.

Für die Kontrolle der Hämatokritabhängigkeit gingen wir so vor, daß wir eine Anämie und Polycythämie in vitro herstellten.

Anämie: 1 ccm 1/10 Vol. %iges Citratblut plus 1 ccm thrombocytenhaltiges Plasma.

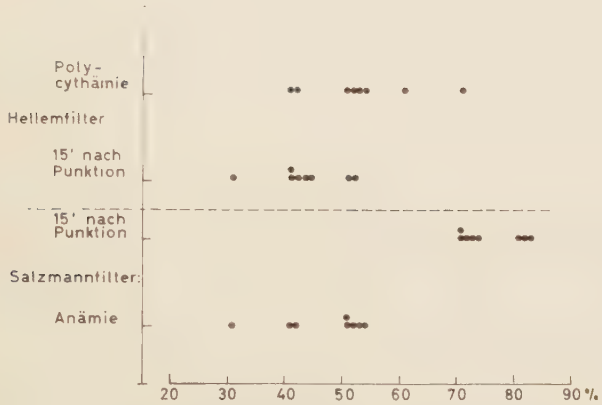
Polycythämie: 1 ccm 1/10 Vol. %iges Citratblut plus 1 ccm des Sediments aus 1/10 Vol. %igem Citratblut, das wir durch Zentrifugation 10' bei 1000 U./Min. erhielten. HK um 65.

Um die unterschiedlichen Adhäsionswerte deutlich zu machen, wurde die Anämie mit Salzmannperlen gemessen, die Polycythämie mit Hellemperlen und zwar 15 Min. nach Punktion der Vene, bei einer Kontaktzeit von 77,0 bzw. 60,0" Sekunden, da es sich ja gezeigt hatte, daß bei dieser Versuchsanordnung die Differenz der beiden Filter am deutlichsten hervortritt.

Als Vergleichswert wurde jeweils der 15' Wert aus 1/10 Vol. % Citratblut in beiden Filtern erneut bestimmt. HK 42 - 48.

Tab. 5

	Salzmannperlen Citratblut Adhäsion in %	Anämie	Hellemperlen Citratblut Adhäsion in %	Polycythämie
1.	78,2	52,2	52,4	55,5
2.	78,7	53,8	39,5	43,2
3.	80,2	55,0	46,7	57,0
4.	80,8	54,1	57,9	69,8
5.	78,1	52,8	49,5	59,9
6.	88,9	44,8	40,5	48,2
7.	77,1	33,1	41,9	59,4
8.	78,8	46,1	48,4	71,1



Tab. 5 Adhäsion in % bei Anämie und Polycythämie
• = je eine Untersuchung aus Tab. 5

Während die Abnahme der dynamischen Adhäsion bei der Anämie deutlich zum Ausdruck kommt, kann eine Zunahme der dynamischen Adhäsion nur begrenzt mit dieser Methode gezeigt werden.

Als Deutung dieses hämatokritabhängigen Adhäsionsunterschiedes dachte R. MARX (21) zunächst an ein mechanisch-rheologisches Phänomen. Später zeigte HELLEM (9), daß bei Hämolyse ein "Faktor R" freigesetzt würde, der eine Agglomeration bewirkt. Schon 1951 hatte ØLLGARD (29) gefunden, daß Kochextrakte von Erythrocyten eine Thrombocytenaggregationswirkung haben. Später fanden dann GAARDER und LALAND in Zusammenarbeit mit HELLEM und OWREN (29), daß sich in diesen Kochextrakten 2 agglomerationsfördernde Substanzen befanden, die sie als ADP und Desoxy-ADP isolierten.

Daß bei Kontakt mit einer Glasoberfläche aus Erythrocyten ADP freigesetzt wird, konnte HOVIG (24) zeigen.

Ob es sich dabei um eine traumatisch durch Hämolyse bedingte, oder um eine stoffwechselbedingte ADP-Freisetzung aus den Erythrocyten handelt, ist noch nicht bis in alle Einzelheiten geklärt.

2. Der Einfluß von ADP auf die dynamische Adhäsion in vitro

Kann ADP auch die dynamische Adhäsion von Thrombocyten in erythrocytenfreiem Plasma beeinflussen und wenn, ab welcher Konzentration? Gibt es eine ADP Konzentration, die nur eine Zunahme der Adhäsion bewirkt und ab welcher Konzentration tritt bereits eine Agglomeration auf?

Für alle Adhäsionsbestimmungsmethoden, die mit einem Filter arbeiten, ist die Frage der Agglomerate von ausschlaggebender Bedeutung, da in dem Moment, wo Agglomerate auftreten, diese eine Größe erreichen können, daß sie im Filter hängen

bleiben und so von einem Adhäsionseffekt nicht mehr gesprochen werden kann. Aus diesem Grund ist es unerläßlich, jeden Leerwert vor der Filtrierung auf Agglomerate zu untersuchen, was wir bei allen Untersuchungen durchführten.

HELLEM (25) gab 0,05 y zu 1 ccm erythrocytenfreiem Plasma und fand dabei eine Zunahme der dynamischen Adhäsion, die deutlich höher war, als bei Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom.

Bei der Kontrolle dieses von Hellem beschriebenen Phänomens gingen wir wie folgt vor:

Erythrocytenfreies Plasma wurde aus 1/10 Vol %igem Citratblut durch 10 minutiges Zentrifugieren bei 1000 U/Min. gewonnen und 15 Minuten nach Punktion der Vene bei Raumtemperatur nach unserem System die dynamische Adhäsion bestimmt.

Es wurde bei 10 Personen:

a) die dynamische Adhäsion im erythrocytenfreiem Plasma bestimmt,
b) wie a) plus 0,05 y ADP/ccm erythrocytenfreies Plasma,
c) wie a) plus 0,5 y ADP/ccm erythrocytenfreies Plasma,
d) wie a) plus 1,0 y ADP/ccm erythrocytenfreies Plasma.

a) ergab, wie schon im vorigen Versuch, eine Adhäsion von 0 %. Bei b, c und d fanden sich bereits im Leerwert Agglomerate, die mit steigender Konzentration von ADP/ccm immer größer wurden.

Aus diesem Grund konnten wir eine Zunahme der dynamischen Adhäsion in dieser Versuchsanordnung, wie sie Hellem beschrieben hat, nicht durchführen, weil uns bei dem Auftreten von Agglomeraten die Aussagen, ob es sich um einen reinen Adhäsionseffekt handelt, als sehr zweifelhaft erscheint.

Wenn, wie die bis hier durchgeführten Versuche zeigen, in 1/10 Vol. %igem Citratblut eine Adhäsion in vitro nachgewiesen werden konnte, dies jedoch in erythrocytenfreiem Plasma nicht möglich ist und bei Zugabe verschiedener Mengen von ADP zu erythrocytenfreiem Plasma Agglomerate auftreten, so ergeben sich für dieses Phänomen folgende Deutungsmöglichkeiten:

1. Die von uns verwandte Menge ADP war zu hoch, so daß ein möglicher Abbau des ADP zu weniger agglomerationsfördernden Substanzen auf Grund eines gestörten unphysiologischen Reaktionsgleichgewichtes nicht möglich war, oder
2. der Abbau von ADP zu einer weniger agglomerationsfördernden Substanz kann ohne die Anwesenheit von Erythrocyten entweder gar nicht oder in nicht genügendem Maße stattfinden.

Das ADP, wenn es zu ATP und ADP umgebaut wird, seine agglomerationsfördernde Wirkung verliert, konnten 1961 bereits HELLEM und OWREN (23) zeigen, die nachwiesen, daß ATP eine ungleich schwächere Wirkung auf die Agglomeration hat als ADP. 1963 beschrieb BORN (26) das gleiche für das AMP. In der 1964 veröffentlichten Arbeit von KERBY und TAYLOR (27) wurde zum ersten Mal auf den Zusammenhang zwischen ADP, ATP und AMP für die Thrombocytenagglomeration hingewiesen, indem diese feststellten, daß die Thrombocytenagglomeration nicht allein vom ADP, sondern auch vom Verhältnis AMP/ADP abhängig ist. Je mehr dieser Quotient zu Gunsten des AMP verschoben wird, umso weniger kommt ADP zur Wirkung. Das für den Umbau des ADP zu AMP notwendige Ferment ist die Adenylatkinase. Folgende Reaktion nehmen die Autoren an:

ADP entweder aus Erythrocyten, oder Thrombocyten oder erst im Plasma entstanden durch Glucose und ATP mit Hilfe des Fermentes Hexokinase wird folgendermaßen umgebaut:

$$2\ ADP \xrightarrow{\text{Adenylatkinase}} ATP + AMP$$

$$AMP \xrightarrow{\text{Adenylsäuredesaminase}} IMP + NH_3$$

(IMP = Inosin-5'-Monophosphat)

Die hemmende Wirkung von Adenosin und AMP auf die Agglomeratbildung und deren fördernde Wirkung auf die Auflösung von Agglomeraten konnte 1965 EVERTZ (28), ein Doctorand von R. Marx, bestätigen. Im gleichen Jahr beschrieben MARR, BARBORIAK und JOHNSON (29) die Agglomerationsfördernde Wirkung von ADP als wesentlich für die Blutgerinnung. Diese Tatsache ist klinisch insofern von Bedeutung, als 1964 ÖDEGAARD, SKALHEGG und HELLEM (30) auf eine mögliche Beziehung zwischen der niedrigen Zahl von Thromboembolien und einem erhöhten Abbau bei bestimmten Krankheiten - Thyreotoxikose - hinweisen.

Wie weit sind die durch ADP entstandenen Agglomerate reversibel, oder irreversibel? Um diese Frage zu klären, gingen wir folgendermaßen vor:

1. Thrombocytenreiches Plasma wurde sofort nach Zentrifugation auf Agglomerate untersucht.
2. Das gleiche Plasma wurde in einer Leukocytenpipette 20-fach verdünnt und ebenfalls unter dem Mikroskop auf Agglomerate untersucht.
   In beiden Kammern fanden sich keine Agglomerate.
3. Zugabe von 0,05 y ADP ohne und mit Novocainverdünnung.
   In beiden Kammern fanden sich deutliche Agglomerate.

Die Kammern wurden in einer feuchten Petrischale 3 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und alle 15 Minuten auf ihre Agglomerate untersucht. Zur Veranschaulichung wurden jeweils die gleichen Gesichtsfelder gezeichnet und miteinander verglichen.

Folgende Feststellungen konnten während der 3-stündigen Beobachtungszeit getroffen werden:

1. Die Agglomerate bei der Konzentration von 0,1 y ADP waren eindeutig größer als bei 0,05 y ADP, unabhängig, ob mit oder ohne Novocainverdünnung.
2. Während der Beobachtungszeit von 3 Stunden kommt es teilweise zu einer Auflösung der Agglomerate, so daß jetzt ganz deutlich wieder einzelliegende Thrombocyten sichtbar werden.

Dabei konnte folgende Beobachtung gemacht werden, daß sich nämlich:

a) die Agglomerate in der niedrigen Konzentration von 0,05 y ADP schneller und häufiger wieder trennten, als dies bei einer Konzentration von 0,1 y ADP der Fall war,

b) in dem mit Novocain verdünnten Plasma die Agglomerate schneller und weitgehender wieder zu einzelliegenden Thrombocyten auflösten.

Wir können also feststellen, daß das Maß der Agglomeration von der Konzentration des ADP abhängig ist, ebenso die Wiederauflösung der Agglomerate.

Weiterhin wird deutlich, daß in mit Novocain verdünntem thrombocytenreichen Plasma die Desaggregation der Thrombocyten schneller erfolgt.

3. Der Einfluß von Novocain auf die Agglomeration

Wenn Novocain die Desaggregation der durch ADP agglomerierten Thrombocyten fördert, kann es dann auch die Agglomeration verhindern, wenn man es vor dem ADP dem thrombocytenreichen Plasma hinzu gibt und wenn ja, ab welchem Mischungsverhältnis Plasma : Novocain?

Folgende Beobachtung konnten wir machen:

1. Thrombocytenreiches Plasma : keine Agg.
2. " " + Novocain 1:1 : " "
3. " " " 3:1 : " "
4. " " " 9:1 : " "
5. " " " 1:1+0,1 y ADP/ccm: keine Agg.
6. " " " 3:1+0,1 y ADP/ccm: einzelne Agg.
7. " " " 9:1+0,1 y ADP/ccm: viele Agg.

Es zeigt sich also, daß ab einer gewissen Verdünnung von thrombocytenreichem Plasma mit Novocain vor Zugabe des ADP dieses die ADP induzierte Agglomeration verhindert.

KREITER (31) beschrieb 1958 für die statische Adhäsion nach Marx und Derlath und die Evolution einen hemmenden Effekt von Novocain.

4. Die Wirkung des Kälteschocks auf die dynamische Adhäsion

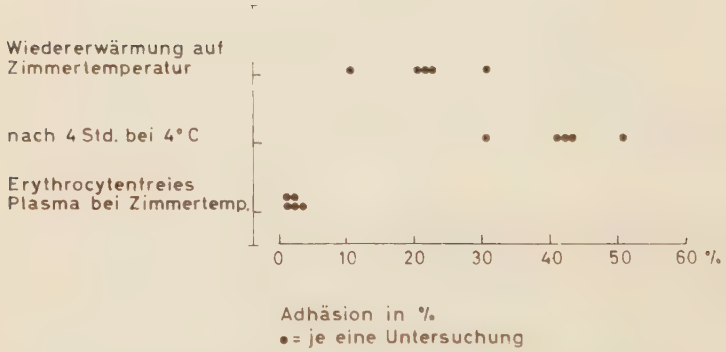
Wie aus vorausgegangenen Versuchen zu ersehen war, findet ohne Erythrocyten keine dynamische Adhäsion statt.

Nimmt man nun thrombocytenreiches Plasma und setzt dies einem Kälteschock von 4 Stunden bei 4^{0}C aus, so findet sich folgendes Phänomen für das Hellemfilter bei einer Kontaktzeit von 60,0 Sekunden:

a: Leerwert ohne Kälteschock
b: Adhäsionswert nach 4-stündigem Kälteschock
c: Adhäsionswert nach Wiedererwärmung auf Zimmertemperatur.

Tab. 6

	a:	b:	c:
1.	0 %	44,2 %	11,8 %
2.	0 %	44,8 %	20,5 %
3.	0 %	53,2 %	30,3 %
4.	0 %	36,3 %	28,2 %
5.	0 %	41,4 %	24,9 %



Tab. 6 Die Wirkung des Kälteschocks auf die dynamische Adhäsion

Während der 4 Stunden wurde der Leerwert bei Zimmertemperatur aufgehoben. Weder im Leerversuch, noch im thrombocytenreichen Plasma, das dem Kälteschock ausgesetzt war, fanden sich vor wie nach der Filtration Agglomerate, auch nicht nach Wiedererwärmung auf Zimmertemperatur.

Aus der Tabelle wird deutlich, wie nach Kälteschock eine Adhäsion jetzt also auch ohne die Anwesenheit von Erythrocyten möglich ist, die jedoch mit Wiedererwärmung auf Zimmertemperatur wieder verloren geht.

Diese Beobachtung steht im Widerspruch zur gleichen Beobachtung für die Statische Adhäsion, die nach Kälteschock geringfügig herabgesetzt ist, KREITER (31).

5. Die Abhängigkeit der dynamischen Adhäsion vom Ca^{2+}-Ionengehalt

Es ist bekannt, daß Sequestren, ein besonders im alkalischen, bzw. neutralen Milieu stark Ca-bindendes Anticoagulanz ist. Die Bindung der Ca^{2+}-Ionen an Sequestren ist stärker als dies bei Natr. citr. 3,8 %ig der Fall ist, vor allem, da es sich dabei um eine irreversible Bindung handelt.

Punktiert man eine Vene und gibt in die Vorlage 1/10 Vol. %iges 2 %iges Sequestren, so wird man bei der mikroskopischen Betrachtung der Thrombocyten niemals Agglomerate finden, was bei der gleichen Vorlage von Citrat hin und wieder der Fall sein kann. Zentrifugiert man Sequestren- und Citratblut und gibt zu dem so erhaltenen thrombocytenreichen Plasma ADP, dann stellt man fest, daß die Agglomeratbildung im Sequestrenplasma spärlicher ist als im Citratplasma, EVERTZ (28). Schon 1957 stellten NILSSON und Mitarbeiter (32) unter anderem fest, daß die Agglomeration von Thrombocyten neben einem Plasmafaktor auch vom Ca^{2+}-Ionengehalt abhängig ist. Die gleiche Beobachtung für Kaninchenthrombocyten beschrieb 1964 HOVIG (33), und für menschliche Thrombocyten im gleichen Jahr SKALHEGG, HELLEM und ÖDEGAARD (34),

wobei diese meinen, daß das Ca^{2+}-Ion das bindende Glied zwischen zwei ADP-Molekülen ist, die wiederum jeweils mit einem Thrombocyten über den v. Willebrand Faktor verbunden sind.

1963 beschrieb SALZMANN (10), daß, als er in 1/50 Vol. %igem 19 %igem Na-Citratblut die dynamische Adhäsion in vitro nach seiner Methode untersuchte, sich ein Adhäsionswert von 0 % ergab. Er deutete dieses Phänomen dahingehend, daß es eines 2-wertigen Kations bedarf, damit die Thrombocyten bei dieser Versuchsanordnung an einer körperfremden Oberflächen haften können.

ROEBER (35) fand 1963 eine Abnahme der dynamischen Adhäsion für die Kapillaradhäsiometrie nach Marx und Derlath bei steigender Konzentration von Sequestren in der Vorlage.

Bei unseren Versuchen an 10 gesunden Personen wurde

1. die dynamische Adhäsion 15 Minuten nach Punktion der Vene im Salzmannfilter bei 77,0" Kontaktzeit aus 1/10 und 1/5 Vol. %igem Citratblut miteinander verglichen und
2. das gleiche mit 1/10 und 1/5 Vol. %igem 2 % Sequestren, was 200 und 400 mg % entspricht.

Ergebnis:

1. Ein gravierender Unterschied ist für den Vergleich mit Citratblut nicht feststellbar.
2. Für den Vergleich mit Sequenstrenblut ergaben sich folgende Durchschnittswerte:

1/10 Vol. % = 200 mg %:

Niedrigster Adhäsionswert	Höchster Adhäsionswert	Mittelwert	Schwankungsbreite
34,8 %	41,0 %	37,9 %	6,2 %
1/5 Vol. % - 400 mg %			
8,6 %	21,2 %	14,9 %	12,6 %

Für unsere Methode konnten wir die Ergebnisse von ROEBER (32) bestätigen, nämlich die Abnahme der dynamischen Adhäsion bei steigender Konzentration von Sequestren, im Gegensatz zu SALZMANN (9) konnten wir eine Aufhebung der dynamischen Adhäsion jedoch nicht feststellen.

Ob dies bei einer Steigerung der Sequestrenkonzentration möglich gewesen wäre, wurde von uns deshalb nicht untersucht, da wir glauben, daß dann bereits eine toxische Wirkung des Sequestrens keine eindeutige Aussage erlaubt.

6. Die Bedeutung des Fibrinogens für die dynamische Adhäsion

Fibrinogen Degeneration Products (FDP) vermindern, wie KOWALSKI und Mitarbeiter (36) gezeigt haben, die Thrombocytenagglomeration und Adhäsion. Für die Agglomeration und die statische Adhäsion nach Marx und Derlath konnte WIDMER (37) dieses Phänomen bestätigen.

Wir untersuchten die Verhältnisse für die dynamische Adhäsion nach unserer Methode.

a: in vitro

Aus 1/10 Vol. %igem Citratblut, zu dem wir 1000 E Streptokinase gaben, die schon vorher in der Citratvorlage gelöst waren, bestimmten wir die dynamische Adhäsion im Hellemfilter bei einer Kontaktzeit von 60,0 Sekunden 15 Minuten nach Punktion der Vene und 2 Stunden nach Punktion.

Die Thrombinzeit war in beiden Versuchen größer als 3 Minuten.

a: 15 Min. nach Punktion, Leerwert ohne Streptokinase
b: 15 Min. nach Punktion + 1000 E. Streptokinase nach 15 Min.
c: 15 Min. nach Punktion + 1000 E. Streptokinase nach 1 Std.

	a:	b:	c:
1.	32,3 %	14,9 %	5,6 %
2.	53,0 %	16,3 %	2,7 %
3.	37,7 %	16,7 %	1,2 %
4.	33,0 %	13,1 %	0,0 %
5.	49,2 %	14,3 %	5,8 %

Mit zunehmender Fibrino(geno)lyse finden wir eine Abnahme der dynamischen Adhäsion in vitro.

b: in vivo

Um die Verhältnisse in vivo zu vergleichen, wurde die dynamische Adhäsion an drei mit Streptokinase behandelten Patienten untersucht. Die Thrombinzeiten waren bei allen drei Patienten auf das Dreifache der Norm verlängert.

a: 15 Min. nach Punktion der Vene, Leerwert vor Beginn der Therapie im Hellemfilter, Kontaktzeit 60,0 Sek.

b: wie a während der Therapie

c: Leerwert wie a, im Salzmannfilter, Kontaktzeit 77,0 Sek.

d: wie a, während der Therapie.

	a:	b:	c:	d:
1.	43,8 %	22,5 %	86,0 %	39,7 %
2.	49,0 %	12,4 %	80,6 %	35,5 %
3.	52,3 %	28,1 %	74,3 %	41,2 %

Es zeigt sich somit, daß während der Streptokinasetherapie die dynamische Adhäsion der Thrombocyten in vitro deutlich absinkt. Ein Befund, der, wenn dies auch in vivo zutrifft, eine sicher zusätzlich günstige Wirkung auf die Vermeidung weiterer Thrombosen hätte!

Ob dieser Effekt allein auf dem Vorhandensein der Fibrinogen Degeneration Products (FDP) beruht, oder auf der starken Verminderung des Fibrinogens, ist noch nicht restlos geklärt.

c: Bei einer Patientin mit totaler Afibrinogenämie

Während dieser Studien hatten wir Gelegenheit, die dynamische Adhäsion in vitro bei einem 5-jährigen Mädchen zu untersuchen, das an einer totalen Afibrinogenämie litt.

Sämtliche Adhäsionswerte im Extravasalstatus nach unserer Methode wie auch im Nativblut waren gleich 0 %.

Anschließend lösten wir in der Citratvorlage Humanfibrinogen Behring Werke (in dem sich 60 % rein Fibrinogen befindet), um zu prüfen, ob dadurch die Adhäsion in vitro zu steigern sei.

Die Bestimmung geschah im Salzmannfilter bei einer Kontaktzeit von 77,0 Sekunden 15 Minuten nach Punktion der Vene.

In zwei verschiedenen Vorlagen wurde jeweils gelöst:

a: 240 mg % Human.-Fibrinogen Behr./ccm = 150 mg % rein Fibrinogen/ccm

b: 420 mg % Human.-Fibrinogen Behr./ccm = 250 mg % rein Fibrinogen/ccm

	Leerwert ohne Hum.Fibr.Behr.	3. Tropfen aus der Pipette	4. Tropfen aus der Pipette
a:	0,0 %	60,7 %	58,7 %
b:	0,0 %	57,1 %	60,9 %

Es ergibt sich für diesen Fall eine eindeutige Zunahme der dynamischen Adhäsion in vitro. Gleiche Befunde beschrieben 1965 bereits GUGLER und LÜSCHER (38).

Wenn sich, wie der oben geschilderte Fall zeigte, die dynamische Adhäsion durch Zugabe von Fibrinogen steigern läßt, so ergibt sich die Frage, ob es zu einer Zunahme der dynamischen Adhäsion in vitro kommt, wenn man den Fibrinogengehalt über das physiologische Maß hinaus steigert, was wir ja in vivo postoperativ, bei Entzündungen oder während der Gravidität beobachten können.

d: Bei steigender Fibrinogenkonzentration in vitro

Folgende Versuchsanordnung wurde gewählt:

1. Aus 1 ccm Plasma wurde durch Hitzedefibrinierung (5 Min. bei 56°C) der Fibrinogengehalt der jeweiligen Person bestimmt.
2. Leerwertbestimmung der dynamischen Adhäsion 15 Minuten nach Punktion im Hellemfilter bei einer Kontaktzeit von 60,0 Sekunden. Es wurde bewußt das Hellemfilter gewählt, da wir ja festgestellt hatten, daß es sich zu Untersuchungen der Zunahme der dynamischen Adhäsion auf Grund seines niedrigeren Mittelwertes besser eignen würde.
3. In der Vorlage wurden steigende Mengen Humanfibrinogen Behring Werke gelöst, anschließend die Vene punktiert und

15 Minuten nach Punktion die dynamische Adhäsion bestimmt.

Folgende Konzentrationen wurden gewählt:

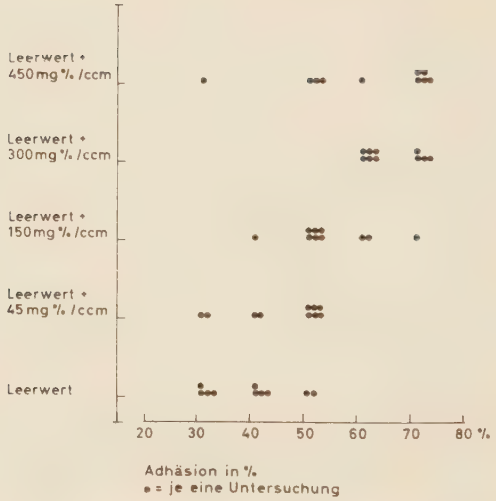
a: 75 mg %/ccm Hum.-Fibr. Behr. = 45 mg % rein Fibrinogen/ccm
b: 250 mg %/ccm Hum.-Fibr. Behr. = 150 mg % rein Fibrinogen/ccm
c: 500 mg %/ccm Hum.-Fibr. Behr. = 300 mg % rein Fibrinogen/ccm
d: 750 mg %/ccm Hum.-Fibr. Behr. = 450 mg % rein Fibrinogen/ccm

Um den Gesamtgehalt an Fibrinogen/ccm Citratblut zu erhalten, muß man den jeweiligen, durch Hitzedefibrinierung erhaltenen Leerwert zu dem Fibrinogengehalt/ccm in der Vorlage addieren.

Für die an 10 gesunden Personen durchgeführten Untersuchungen ergaben sich folgende Werte:

Tab. 7

	1) Fbrgen./ ccm	2) Leer- wert	3a) +45 mg % ccm	3b) +150 mg % ccm	3c) +300 mg % ccm	3d) +450mg% ccm
			Adhäsion in %			
1)	240 mg %	41,4 %	50,5 %	50,5 %	74,6 %	70,5 %
2)	240 mg %	45,2 %	41,7 %	51,9 %	60,9 %	57,7 %
3)	180 mg %	37,4 %	52,7 %	51,7 %	70,7 %	74,8 %
4)	240 mg %	32,7 %	33,8 %	55,2 %	64,2 %	37,4 %
5)	200 mg %	40,0 %	58,4 %	58,7 %	62,2 %	64,1 %
6)	200 mg %	48,0 %	44,3 %	42,7 %	63,6 %	56,3 %
7)	160 mg %	37,1 %	32,1 %	51,1 %	60,0 %	53,3 %
8)	240 mg %	34,2 %	55,3 %	65,1 %	61,2 %	71,6 %
9)	180 mg %	50,5 %	52,2 %	70,3 %	71,6 %	78,5 %
10)	220 mg %	58,2 %	56,0 %	68,8 %	72,0 %	70,2 %



Tab.7 Die Abhängigkeit der dyn. Adhäsion in vitro vom Fibrinogengehalt

Die durchschnittliche dynamische Adhäsion des Leerwertes liegt bei 42,4 %. Die durchschnittliche dynamische Adhäsion des Wertes 3b liegt bei 56,5 %. Da in den Werten 3c und 3d bereits im Leerwert vor Filtration Agglomerate sichtbar waren, ist es nach unserer Auffassung nicht möglich von einem reinen Adhäsionseffekt zu sprechen, obwohl sich ein weiterer leichter Anstieg in diesen beiden Tabellen, wenn man nur die einzelliegenden Thrombocyten zählt, abzeichnet.

So können wir mit Sicherheit nur aussagen, daß zwischen dem Leerwert 2) und dem höchsten Adhäsionswert ohne Auftreten von Agglomeraten 3b) ein Anstieg der dynamischen Adhäsion um 35,3 % stattfindet.

Ob das Auftreten der Agglomerate konzentrationsbedingt ist, oder eine vollkommene Auflösung des Humanfibrinogen Behring Werke bei dieser Konzentration nicht mehr möglich ist, bedarf weiterer Klärung.

C. Die Bestimmung der dynamischen Adhäsion bei Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom

Bei den 13 Patienten, die in dieser Arbeit untersucht wurden, sind vor der Bestimmung der dynamischen Adhäsion folgende hämatostaseologischen Untersuchungen durchgeführt worden:

1. Subaquale Blutungszeit nach MARX und RESSEL (39), länger als 6 Minuten ist pathologisch.
2. Nativvenenblutgerinnung nach LEE and WHITE (40) in der Modifikation nach R. Marx: länger als 11 Minuten ist pathologisch.
3. Thrombelastogramm nach H. HARTERT (41).
4. Thrombocytenzählung nach Feissly und Lüdin in der Modifikation nach MARX und DERLATH (4).
5. Prothrombinzeit nach QUICK in der Modifikation von MARX und BAYERLE (42).
6. Thrombinzeit.
7. F VIII und F IX-Aktivität nach BIGGS und DOUGLAS (43).

Anschließend stellten wir nach unserer Methode einen Extravasalstatus für die dynamische Adhäsion auf, verglichen den 15 Minutenwert des Salzmannfilters mit dem Hellemfilter und

bestimmten die dynamische Adhäsion aus Nativblut im Salzmannfilter.

Diese Untersuchung wurde im Abstand von mindestens 4 Wochen wiederholt und stellt jeweils den 2-ten Wert in der Tabelle dar.

Der Hämatokrit aller Patienten lag zwischen 40 und 48.

Fall 1: Schü. L.

Eine 30-jährige Patientin, deren Großmutter, Mutter und Bruder an verstärkter Blutungsneigung litten wie Hämatomen, Epistaxis und Menorrhagien.

Die Patientin selbst leidet unter schwersten Meno- und Metrorrhagien. Praemenstruell treten bei ihr verstärkt Hämatome auf. Die Patientin hat ein Kind und mehrere Fehlgeburten. Nach einer Myomoperation traten schwerste Nachblutungen auf.

Subaquale Blutungszeit: 9' 40", 6', 11', 4' 10".
Lee White: 9' 30".
TEG: r = 12', k_1 = 6', m_a = 48 mm

Thrombocyten: 260400
Quich Index: 90
Thrombinzeit: normal
Plasma und Serum-Biggs: normal

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	15' S-Filt.	15' H.Filt.	Nativ.
1.	42,1 %	46,8 %	43,4 %	35,8 %	78,2 %
2.	44,0 %	50,3 %	47,7 %	25,3 %	74,7 %

Die dynamische Adhäsion ist bei beiden Untersuchungen im 5' + 15' Minutenwert, gemessen im Salzmannfilter, eindeutig pathologisch, weiterhin bei beiden Untersuchungen auch der 15

Minutenwert im Hellemfilter.

Fall 2: He. M.

Eine 47-jährige Patientin, die wir zufällig untersuchten, da sie mit ihrem 6-jährigen Sohn zu uns kam, der sehr unter Nasenbluten und Hämatomen litt. Der Patientin war bekannt, daß ihr Urgroßvater, Großvater sowie ihr Vater unter starken Blutungen litten.

Sie selbst klagt über häufiges Nasenbluten, starke Hämatome und Menorrhagien.

Subaquale Blutungszeit: 9', 11', 13' 30", 10'
Lee White: 9'
TEG: r = 10', k_1 = 8', m_a = 50 mm

Thrombocyten: 220000
Quick: Index: 80
Thrombinzeit: normal
Plasma und Serum: Biggs: normal

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	15' S.-Filt.	15' H.-Filt.	Nativ
1.	24,2 %	45,2 %	57,7 %	56,5 %	74,2 %
2.	39,6 %	28,7 %	41,7 %	60,2 %	69,0 %

In beiden Untersuchungen fällt der Extravasalstatus im Salzmannfilter fast identisch deutlich pathologisch aus.

Fall 3: Schm. M.

Der 53-jährige Patient.war bis auf einen Bruder kein Familienmitglied mit Blutungsneigung bekannt. Der Bruder litt unter häufigem Nasenbluten.

Bis zu ihrem 30sten Lebensjahr traten bei ihr immer wieder

Hämatome auf, außerdem Nasenbluten und starke Blutungen nach einer Zahnextraktion.

Subaquale Blutungszeit: 9', 9' 15", 11', 8' 30".
Lee White: 7' 30"
TEG: r = 10', k_1 = 6', m_a = 46 mm

Thrombocyten: 192000
Quick Index: 90
Thrombintest: normal
Serum und Plasma-Biggs: normal.

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	15' S.-Filt.	15' H.-Filt.	Nativ
1.	23,9 %	40,0 %	41,7 %	58,7 %	73,2 %
2.	19,6 %	47,7 %	48,1 %	40,2 %	75,4 %

In beiden Untersuchungen ist der Extravasalstatus im Salzmannfilter deutlich pathologisch.

Fall 4: Ho. M.

Der Vater der 44-jährigen Patientin klagte über heftigste Nachblutungen nach Zahnextraktion, die Mutter über starke Menorrhagien und starkes Nasenbluten, ihre subaquale Blutungszeit: größer als 9 Minuten. Die Zwillingsschwester der Patientin leidet ebenfalls unter Nasenbluten, Hämatomen, Zahnfleischbluten und Nachblutungen nach Zahnextraktion, ihre subaquale Blutungszeit: 6' 24" und 9'.

Die Patientin selbst hatte eine sehr heftige 2-wöchige Menarche, ab dieser Zeit Zahnfleischbluten, Hämatome, petechiale Blutungen und eine starke Nachblutung nach ihrer Tonsillektomie.

Subaquale Blutungszeit: 9', 8' 40", 11', 14'.

Lee White: 10'
TEG: r = 9', k_1 = 8' 30", m_a = 72 mm

Thrombocyten: 174000
Quick Index: 1000
Thrombinzeit: normal
Serum und Plasma-Biggs: normal.

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	15' S.-Filt.	15' H.-Filt.	Nativ.
1.	26,9 %	68,8 %	64,1 %	63,7 %	75,4 %
2.	23,1 %	56,9 %	72,7 %	52,9 %	74,4 %

Eindeutig pathologisch sind in beiden Untersuchungen die Direktwerte des Extravasalstatus, leicht pathologisch außerdem noch der 15 Minutenwert im Salzmannfilter der ersten Untersuchung.

Fall 5: Hi. F.

Dem 31-jährigen Patienten sind keine Familienmitglieder mit Blutungsneigung bekannt.

Er leidet seit dem 6-ten Lebensjahr unter jährlich spontan wiederkehrenden Nasenblutungen. Nach Tonsillektomie hatte er eine 4-tägige Nachblutung. In den letzten 2 - 3 Jahren haben die petechialen Blutungen nachgelassen.

Subaquale Blutungszeit: 15', 14', 10', 13'
Lee White: 6' und 9' 30'
TEG: r = 7', k_1 = 9' 30", m_a = 57 mm

Thrombocyten: 180000
Quick Index: 80
Thrombinzeit: normal
Faktor VIII - Aktivität im Plasma-Biggstest vermindert.

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	15' S.-Filt.	15' H.-Filt.	Nativ
1.	37,7 %	24,4 %	28,4 %	53,9 %	67,3 %
2.	28,0 %	33,9 %	44,5 %	47,2 %	77,2 %

Bei beiden Untersuchungen findet sich ein deutlich pathologischer Extravasalstatus, bei der ersten Untersuchung auch ein leicht pathologischer Nativblutadhäsionswert.

Fall 6: Bl. R.

In der Familie der Patientin leidet eine Schwester unter häufigem Nasenbluten und Hämatomen, ebenso deren 7-jährige Tochter. Die andere Schwester der Patientin ist gesund.

Die ersten auffälligen Blutungen traten bei der Patientin im 9-ten Lebensjahr auf, auf Grund einer Verletzung am Zahnfleisch. Es blutete damals 2 mal 8 Stunden, sodaß sie in ein Krankenhaus eingeliefert werden mußte. Weiterhin starke Nachblutungen nach Zahnextraktionen und beim Zahnwechsel, außerdem treten bei ihr sehr leicht Hämatome auf. Nach der Appendektomie kam es zu einer starken Nachblutung aus der Narbe. Menorrhagien treten bei ihr verstärkt im Frühjahr und Herbst auf.

Subaquale Blutungszeit: 27', 18', 15', 23'.
Lee White: 10'
TEG: r = 6' 30", k_1 = 9', m_a = 64 mm

Thrombocyten: 199200
Quick Index: 100
Thrombinzeit: normal
Faktor VIII-Aktivität im Plasma-Biggstest: vermindert.

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	15' S.-Filt.	15' H.-Filt.	Nativ.
1.	48,3 %	31,8 %	27,3 %	54,3 %	69,4 %
2.	39,5 %	22,9 %	18,2 %	40,6 %	72,7 %

Im Extravasalstatus fiel der 5'- und 15'-Wert in beiden Untersuchungen deutlich pathologisch aus.

Fall 7: Ca. F.

Die Mutter des 68-jährigen Patienten litt unter starken Menorrhagien. Von seinen 12 Halbgeschwistern starben 5 als Frühgeburten, 7 leben. Ein Sohn des Patienten hatte im Alter von 5 Jahren starke Nachblutungen nach einer Zahnextraktion, sodaß Bluttransfusionen notwendig waren.

Als Kleinkind hatte der Patient mehrfach Hämatome. Vom 5. - 14-ten Lebensjahr starkes Nasenbluten über Tage und Wochen bis zur Erschöpfung.

Mit 20 Jahren Magen- und Darmblutungen, Teerstühle. Bis zum 61-sten Lebensjahr Epistaxsis von unterschiedlicher Stärke, sodaß im 61-sten Lebensjahr noch eine Carotisunterbindung durchgeführt wurde. Im gleichen Jahr erneut Darmblutungen mit Teerstühlen. Seit 4 - 5 Jahren ist der Patient mehr oder weniger beschwerdefrei.

Subaquale Blutungszeit: mehrfach größer als 20 Minuten.
Lee White: 11'
TEG: r = 10', $\hat{k}_1$ = 4' 30", m_a = 144 mm

Thrombocyten: 220000
Quick Index: 100
Thrombinzeit: normal
Faktor VIII-Aktivität im Plasma-Biggstest vermindert.

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	15' S.-Filt.	15' H.-Filt.	Nativ
1.	41,5 %	68,2 %	72,8 %	46,3 %	82,0 %
2.	48,5 %	66,4 %	74,5 %	41,6 %	84,7 %

In beiden Untersuchungen läßt sich ein pathologischer Wert für die dynamische Adhäsion nicht finden.

Bei den 6 folgenden Patienten handelt es sich um Geschwister aus einer Familie, bei der eine starke hämorrhagische Diathese über 2 Generationen bekannt ist.

Vom Großvater ist bekannt, daß er unter starkem Nasenbluten, Zahnfleischbluten, Hämatomen und verlängerten Nachblutungen nach Verletzungen litt.

Der Vater hat seit dem Kleinkindesalter, besonders im Frühjahr, vermehrt Hämatome nach Mikrotraumen, Zahnfleischbluten, Nasenbluten und verlängertes Nachbluten nach Verletzungen.

Der Bruder des Vaters litt im Kleinkindesalter unter verstärktem Nasenbluten und blauen Flecken. Dies wurde nach dem 13-ten Lebensjahr immer seltener. Zum letzten Mal hatte er im 21-sten Lebensjahr sehr starkes Nasenbluten, ist jedoch seit dieser Zeit beschwerdefrei. Von seinen drei Kindern hat ein Sohn häufig Nasenbluten, Zahnfleischbluten, blaue Flecken nach leichtesten Verletzungen sowie eine starke Nachblutung nach der Tonsillektomie.

Bei seinem zweiten Sohn treten Zahnfleischblutungen und Hämatome in viel geringerem Maße auf und bei der Tochter kann man nur andeutungsweise von einer Blutungsneigung sprechen.

Von den beiden Schwestern des Vaters unserer 6 Patienten hat

eine starkes und häufiges Nasenbluten, Zahnfleischbluten, sehr leicht Hämatome und extrem starke Meno und -Metrorrhagien, deretwegen sie sich häufiger in stationärer Behandlung befand.

Die andere Schwester hat seit dem Schulalter Nasenbluten, Zahnfleischbluten, Nachblutungen nach Schnittverletzungen und Hämatome. Die Appendektomie verlief bei ihr ohne Nachblutungen. Wegen ihrer starken Meno und -Metrorrhagien befand sie sich schon mehrmals in der Klinik. Mit zunehmendem Alter habe die Blutungsneigung nachgelassen, tritt jedoch während des Frühjahres und im Herbst immer wieder verstärkt auf.

Fall 8: Christel G.

Seit dem Kleinkindesalter starkes Nasenbluten, Zahnfleischbluten, Hämatome nach Mikrotraumen und verstärktes Nachbluten. Die Blutungsneigung tritt bei ihr verstärkt im Frühjahr auf. Wegen starker Meno und -Metrorrhagien befand sie sich bereits 2 Mal in stationärer Behandlung.

Subaquale Blutungszeit: größer als 15 Minuten an beiden Ohren mehrmals gemessen.
Lee White: 1 Mal normal und 1 Mal leicht pathologisch.
TEG: $r = 9'$, $k_1 = 2'\ 30''$, $m_a = 61$ mm

$r = 11/2'$, $k_1 = 7'$, $m_a = 51$ mm

Thrombocyten: 213000
Quick Index: 77
Thrombinzeit: normal
Faktor IX, X und XII im Serum Biggstest deutlich pathologisch.

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	15' S.-Filt.	15' H.-Filt.	Nativ.
1.	21,5 %	34,0 %	52,8 %	62,7 %	64,6 %
2.	6,8 %	15,7 %	61,8 %	45,1 %	58,2 %

Extravasalstatus wie Nativblutadhäsion zeigen in beiden Untersuchungen pathologische Werte.

Fall 9: Benno G.

Er hatte als Kleinkind selten Nasenbluten und ist seit dieser Zeit beschwerdefrei.

Subaquale Blutungszeit: 3', 3' 30", immer normal.
Lee White: 8', 8' 30",
TEG: r = 12 1/2', k_1 = 11', m_a = 38 mm deutlich pathologisch

r = 9' k_1 = 8', m_a = 50 mm normal

Thrombocyten: 171000
Quick Index: 70
Thrombinzeit: normal
Serum Biggstest: 2 mal leicht pathologisch
1 mal normal.

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	15' S.-Filt.	15' H.-Filt.	Nativ.
1.	58,6 %	64,4 %	73,3 %	49,6 %	83,8 %
2.	49,5 %	61,3 %	72,8 %	53,7 %	81,2 %

Sämtliche Werte der dynamischen Adhäsion sind normal.

Fall 10: Margarete G.

Sie hat die gleiche Manifestation wie ihre ältere Schwester, jedoch noch zusätzlich Darmblutungen. Im 4-ten Lebensjahr

Durchfälle mit hellem Blut. Seit der Menarche schwere Meno und -Metrorrhagien. In der Klinik befand sie sich einmal wegen unstillbarer Nasenblutungen im Rahmen eines fieberhaften grippalen Infektes.

Subaquale Blutungszeit: 8' 12", 12'
Lee White: 6', 8', 8' 30", 12'
TEG: r = 8', k_1 = 6' 30", m_a = 48 mm

Thrombocyten: 170000
Quick Index: 75
Thrombinzeit: normal
Serum Biggstest: 1 mal gering und 1 mal stark pathologisch.

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	15' S.-Filt.	15' H.-Filt.	Nativ.
1.	26,8 %	41,5 %	51,2 %	44,8 %	72,1 %
2.	18,7 %	43,8 %	48,6 %	40,8 %	62,9 %

In beiden Untersuchungen fällt der Extravasalstatus im Salzmannfilter pathologisch aus, ebenso in der zweiten Untersuchung die Nativblutadhäsion.

Fall 11: Barbara G.

Nasenbluten, Zahnfleischbluten und Blutungen beim Zahnwechsel sind bei ihr ebenfalls stark und häufig, jedoch hat sie sehr selten Meno und -Metrorrhagien. Im 5-ten Lebensjahr hatte sie eine Makrohämaturie bei einem Harnwegsinfekt.

Subaquale Blutungszeit: an beiden Ohren mehrmals gemessen immer größer als 12'
Lee White: 7', 8', 6 1/2', 8 1/2'
TEG: r = 11', k_1 = 5', m_a = 56 mm

r = 9' 30", k_1 = 8', m_a = 53 mm

Thrombocyten: 145000

Quick Index: 100
Thrombinzeit: normal
Serum Biggs-Test: 3 mal deutlich pathologisch.

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	5'-S.-Filt.	15' H.-Filt.	Nativ.
1.	18,2 %	26,4 %	54,4 %	48,7 %	78,3 %
2.	29,0 %	34,4 %	41,3 %	54,0 %	75,3 %

In beiden Untersuchungen fanden wir einen pathologischen Extravasalstatus im Salzmannfilter.

Fall 12: Ursula G.

Die Patientin leidet primär an starkem Nasenbluten, alle anderen Manifestationen sind bei ihr am geringsten, die Patientin hat noch keine Menarche.

Subaquale Blutungszeit: 6' grenzwertig und 2 mal normal.
Lee White: 8', 7' 30", 7' 30", 11' 30"
TEG: r = 9', k_1 = 8', m_a = 49 mm

r = 10', k_1 = 8', m_a = 46 mm

Thrombocyten: 145000
Quick Index: 100
Thrombinzeit: normal
Serum Biggstest: 2 mal gering pathologisch.

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	15' S.-Filt.	15' H.-Filt.	Nativ.
1.	49,1 %	65,6 %	80,3 %	54,3 %	86,2 %
2.	50,6 %	64,3 %	69,5 %	48,9 %	85,2 %

Bis auf einen grenzwertigen Befund im 15 Minutenwert der zweiten Untersuchung fielen alle Werte normal aus.

Fall 13: Klara G.

Seit dem Kleinkindesalter leidet sie unter starkem Nasenbluten, Zahnfleischbluten, Hämatomen und Nachblutungen. Einmal hatte sie eine Makrohämaturie bei einer Pyelonephritis. Mit 10 Jahren kam sie in die Kinderklinik wegen Darmblutungen, es entleerte sich im Stuhl dunkelrotes Blut sowie Teerstühle.

Subaquale Blutungszeit: mehrmals an beiden Ohren gemessen, immer größer als 12'

Lee White: 11' 30", 6' 30", 6', 8'

TEG: r = 8', k_1 = 8', m_a = 51 mm

r = 8' 30", k_1 = 8', m_a = 52 mm

Thrombocyten: 165000

Quick Index: 90

Serum Biggstest: 1 mal normal, 1 mal deutlich pathologisch.

Extravasalstatus und Nativblutadhäsion:

	Direkt	5'	15' S.-Filt.	15' H.-Filt.	Nativ.
1.	9,6 %	11,5 %	29,2 %	29,3 %	44,0 %
2.	15,1 %	26,7 %	28,5 %	27,8 %	68,7 %
			41,0 %	28,2 %	

In beiden Untersuchungen fiel der Extravasalstatus deutlich pathologisch aus, die Nativblutadhäsion war in der ersten Untersuchung pathologisch, in der zweiten Untersuchung grenzwertig. Die beiden pathologischen 15 Minutenwerte konnten in einer dritten Untersuchung bestätigt werden.

D. Vergleich der dynamischen Adhäsion bei einer Patientin mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom vor und nach der Therapie mit Cohn-Fraktion I

Es handelt sich hier um die Patientin Klara G., Fall 13, im vorigen Kapitel.

Die Patientin wurde stationär aufgenommen, da bei ihr ein Zahn gezogen werden sollte und die Eltern Nachblutungen befürchteten. Um diesen eventuell vorzubeugen, bekam sie bei uns 300 ccm Cohn-Fraktion I in 1 1/2 Stunden, da wir hofften, wie dies schon NILSSON und Mitarbeiter beschrieben hatten (32), die verlängerte Blutungszeit günstig beeinflussen zu können.

Vor und nach der Therapie wurde die subaquale Blutungszeit bestimmt und jeweils ein Extravasalstatus mit der Nativblutadhäsion bestimmt.

1. Kontrolle der dynamischen Adhäsion vor Gabe der Cohn-Fraktion:

   Subaquale Blutungszeit: 20' 30".

Direkt nach Punktion	5' nach Punkt.	15' nach P. i.S.-Filter	15' nach P. i.H.-Filt.	Nativ i. S.-Filter
22,8 %	17,1 %	17,2 %	28,3 %	59,0 %

2. Nach Gabe von 300 ccm Cohn-Fraktion I in 1 1/2 Stunden.

   Subaquale Blutungszeit: 18' 30".

17,8 %	18,8 %	39,4 %	45,7 %	55,2 %

Aus dieser Untersuchung geht hervor:

1. Die erneute Bestimmung des Extravasalstatus und der Nativblutadhäsion ergab, wie schon im vorigen Kapitel, eindeutig pathologische Werte in allen Werten.

2. Nach der Gabe von 300 ccm Cohn-Fraktion I in 1 1/2 Stunden finden wir keine wesentliche Änderung dieser pathologischen Befunde in vitro, auch die subaquale Blutungszeit blieb weiterhin pathologisch.

Daher können wir für unseren Fall die Befunde von BORCHGREVINK und Mitarbeitern (44) nicht bestätigen, die einen positiven Effekt von Cohn-Fraktion I auf die Blutungszeit bei v. Willebrand Jürgens Patienten beschreiben.

Es sei jedoch bemerkt, daß die Zahnextraktion völlig blande verlief und keinerlei Nachblutungen auftraten. Allerdings tamponierten wir die Wunde sehr fest mit Fibrospum, Acrithrombin, welches mit Arterenol besprüht war.

III. DISKUSSION

Bei dem Versuch, die von Hellem beschriebene Methode zur Bestimmung der dynamischen Adhäsion in vitro auch für unsere Untersuchungen anzuwenden, zeigte sich eine extrem große Streubreite im Extravasalstatus, als deren Ursache wir eine zu kurze Kontaktzeit fanden. Von Bedeutung mag dafür sein, daß mit Verlängerung der Kontaktzeit gleichzeitig der Druck im Filtersystem bei der Untersuchung abnimmt, so daß also die große Schwankungsbreite mechanischen Ursprungs sein kann.

Bei verlängerter Kontaktzeit von 24 Sek. auf 60 Sek. fanden wir für das Hellemfilter 15 Minuten nach Punktion der Vene einen

Mittelwert von:	52,0 % bei einer
Schwankungsbreite von:	29,8 %.
Der niedrigste Adhäsionswert lag bei:	37,1 %,
der Höchste bei:	66,9 %.

Um als vergleichbaren Ausgangswert einen höheren Adhäsionsbereich zu erhalten, verwandten wir an Stelle der von Hellem beschriebenen Perlen (Dragon-Werke Bayreuth) die von Salzmann empfohlenen Perlen (Minesota Mining Co. "Superbrite" type 070) und erreichten so bei der gleichen Menge Glasperlen und einer Kontaktzeit von 77 Sekunden einen Mittelwert:

Mittelwert von:	84,05 % bei einer
Schwankungsbreite von:	26,7 %.
Der niedrigste Adhäsionswert lag bei:	69,4 %,
der Höchste bei:	96,4 %.

Mit dem so veränderten Hellemfilter und einer Kontaktzeit von 77 Sekunden stellten wir einen Extravasalstatus auf, d.h. aus Citratblut wurde die dynamische Adhäsion direkt, 5

Minuten und 15 Minuten nach Punktion der Vene bestimmt, wobei sich am jeweiligen Mittelwert eine Zunahme der dynamischen Adhäsion zeigte, je länger der zeitliche Abstand zwischen der Punktion der Vene und der Adhäsionsbestimmung lag.

	Direkt nach Punktion	5 Min. nach Punktion	15 Min. nach Punktion
Mittelwert:	48,45 %	64,15 %	76,70 %

Die Deutung dieses Phänomens ist problematisch; handelt es sich um einen "Alterungseffekt", oder bedarf es einer gewissen extravasalen Zeit, bis sich die Oberfläche der Thrombocyten so verändert hat, daß diese an Glas adhärieren?

Zur Bestimmung der dynamischen Adhäsion in vitro aus Nativblut, wie es Salzmann beschrieb, untersucht nach unserer Methode, sei darauf hingewiesen, daß man hier nur mit großem Zweifel von einer Adhäsion sprechen kann, da der "Anstoß zur Blutgerinnung" beim Kontakt des Blutes mit einer blutfremden Oberfläche sicher gegeben ist und somit Thrombin entsteht, das, wie LÜSCHER (45) meinte, einerseits durch Veränderungen der inneren Struktur der Thrombocyten, andererseits durch die Fibrinogen-Fibrinentstehung agglomerationsfördernd wirkt.

Wir fanden bei dieser Bestimmungsmethode einen

Adhäsionsmittelwert von:	82,15 % bei einer
Streubreite von:	20,1 %.
Als niedrigsten Wert:	72,1 %,
als höchsten:	92,2 %.

Bei dem Versuch, eine Teilfunktion der Thrombocyten zu untersuchen, nämlich ihre Fähigkeit, an körperfremden Oberflächen zu adhärieren, stellten wir für die dynamische Adhäsion

in vitro fest, daß die Thrombocyten diese Fähigkeit nur im Zusammenhang mit ihrem Organverband, dem Blut besitzen. MARX (21) formulierte dies wie folgt:

"Prinzipiell erscheint bemerkenswert, daß gerade das spezielle Studium einer Einzelzellfunktion wieder zur Vorstellung einer funktionellen Ganzheit des Blutes und zur Kenntnis der Kollaboration der Blutzellen zurückgeführt hat."

Wie schon früher MARX (17), HUBRICH (18) und HELLEM (19) konnten auch wir eine Korrelation zwischen der Höhe der Adhäsion und der Anzahl der Erythrocyten für unsere Methode nachweisen. Da die dynamische Adhäsion in vitro ohne Erythrocyten nicht möglich ist, andererseits bei Zunahme der Erythrocyten die dynamische Adhäsion zunimmt, also eine direkt erythrocytäre Abhängigkeit der Thrombocyten für ihre Funktion besteht, sei daran erinnert, daß MARX (46) schon früher die Möglichkeit zur Diskussion stellte, ob es sich bei der Thrombopathie v. Willebrand Jürgens nicht in Wirklichkeit um eine Erythropathie handelt, die wiederum die Funktion der Thrombocyten negativ beeinflußt.

Dies wäre aus dem Zusammenspiel der Stoffwechselprodukte zwischen Erythrocyten und Thrombocyten deutbar. Denn wie HELLEM und OWREN (23), BORN (26) und KERBY und TAYLOR (27) stellten auch wir fest, daß ADP, ein zum großen Teil aus den Erythrocyten stammendes Stoffwechselprodukt eine starke Agglomeration hervorruft. Die von HELLEM (25) beschriebene Zunahme der dynamischen Adhäsion in erythrocyten<u>freiem</u> Plasma auf Zugabe von ADP konnten wir aus diesem Grund nicht bestätigen.

Ein weiterer notwendiger Faktor für diese Teilfunktion der Thrombocyten ist das Vorhandensein eines 2-wertigen Kations. Denn bindet man die freie Ca^{2+}-Ionen im Blut, so nimmt damit

die dynamische Adhäsion im Citratblut ab. Daß sie völlig erlischt, konnten wir, im Gegensatz zu SALZMANN (10) nicht nachweisen.

Daß auch die Agglomeration von Thrombocyten vom Ca^{2+}-Ionengehalt abhängig ist, hatte früher schon NILSSON (32), HOVIG (33) und HELLEM, SKALHEGG und ÖDEGAARD (34) nachgewiesen.

Wie weit plasmatische Faktoren für die dynamische Adhäsion in vitro eine Rolle spielen, ist nur zum Teil geklärt.

Daß ohne Fibrinogen keine dynamische Adhäsion möglich ist, hatte schon LÜSCHER (38) bei Patienten mit totaler Afibrinogenämie gezeigt. Das Gleiche konnten wir für unsere Bestimmungsmethode bestätigen.

Gibt man zu Citratblut hohe Dosen von Streptokinase, so daß bei anschließender Kontrolle die Thrombinzeit auf das 4 - 5 - fache erhöht ist und prüft anschließend die dynamische Adhäsion, so ist diese stark vermindert. KOWALSKI (36) schrieb diesen Effekt den durch die Streptokinasebehandlung entstandenen "Fibrinogen Degeneration Products" (FDP) zu, was für die Agglomeration von Thrombocyten und deren statische Adhäsion nach MARX und DERLATH, WIDMER (37) bestätigen konnte.

Da bei unserer Versuchsanordnung neben den Fibrinogen Degeneration Products gleichzeitig aber auch noch eine durch Streptokinase induzierte Afibrinogenämie besteht, läßt sich daraus nicht der Schluß ziehen, daß die Abnahme der dynamischen Adhäsion allein auf dem Vorhandensein der Fibrinogen Degeneration Products besteht.

Wie aus dem von uns beschriebenen Fall der Patientin mit totaler Afibrinogenämie hervor geht, nimmt bei Zugabe von Fibrinogen in vitro in physiologischen Konzentrationen die dynamische Adhäsion in vitro zu und lag bei der Patientin fast in dem von uns gefundenen Normbereich.

Steigert man die Fibrinkonzentration über das physiologische Maß hinaus, so findet sich eine Zunahme der dynamischen Adhäsion, die jedoch nach unseren Befunden ab einer Konzentration von ca. 650 mg % Fibrinogen pro ccm auf Grund der auftretenden Agglomerate nicht mehr eindeutig erfaßbar ist. Ob die auftretende Agglomeration ein Effekt der hohen Konzentration ist, oder eine Verunreinigung des Fibrinogen (Behring Werke), das sich möglicherweise in der Vorlage nicht vollständig gelöst hat, oder ob bei so hohen Konzentrationen Fibrinogen zum Teil Fibrin entsteht, welches dann die Agglomeration bewirkt, ist noch nicht geklärt.

Beurteilung der Befunde bei den Untersuchungen der Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom

Die unterschiedlichen Adhäsionsbereiche, die wir bei den zeitlich verschiedenen Untersuchungen fanden, ermöglichen es, von "pathologischen Funktionstypen", bezogen auf die dynamische Adhäsion in vitro zu sprechen.

Folgende 8 Gruppen lassen sich daraufhin unterscheiden:

Tab. 8

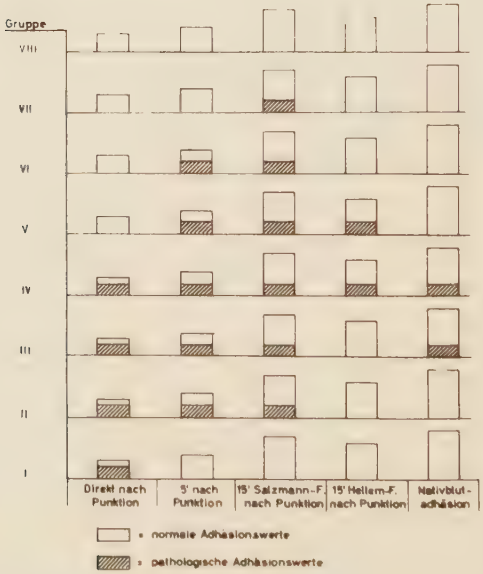
Gru.	Fal.	Biggstest Pl.	Biggstest Se.	D	5	15S	15H	N	Beschreibung:
I	4	nor	nor	pp	nn	gn	nn	nn	Pathologisch ist nur der Direktwert im Salzmannfilter aus Citratblut. Bei einer Bestimmung war der 15' Wert im S-Filter grenzwertig.
II	2	nor	nor						
	3								
	5	pat	nor	pp	pp	pp	nn	nn	Pathologisch ist der Extravasalstatus im Salzmannfilter aus Citratblut.
	10	nor	pat						
	11								
III	8	pat	pat	pp	pp	pp	nn	pp	Ausgenommen den 15' Wert im Hellemfilter aus Citratblut sind alle Werte pathologisch.
IV	13	nor	pat	pp	pp	pp	pp	pp	Alle Adhäsionswerte fallen pathologisch aus.
V	1	nor	nor	nn	pp	pp	pp	nn	5' und 15' Wert im Salzmannfilter sowie der 15' Wert im Hellemfilter aus Citratblut sind pathologisch.
VI	6	pat	nor	nn	pp	pp	nn	nn	5' und 15' Wert im Salzmannfilter aus Citratblut sind pathologisch.
VII	12	nor	pat	nn	nn	pp	nn	nn	Nur der 15' Wert im Salzmannfilter aus Citratblut ist pathologisch.
VIII	7	pat	nor	nn	nn	nn	nn	nn	Bei beiden Untersuchungen finden sich keinerlei pathologische Adhäsionswerte.
	9								

Gru. = Gruppe
Fal. = Fall
Pl. = Plasma
Se. = Serum

D = Direktwert nach Punktion
5 = 5' Wert nach Punktion
15S = 15' Wert nach Punktion im Salzmannfilter
15H = 15' Wert nach Punktion im Hellemfilter
N = Nativblutadhäsion

Wie aus der Tabelle 8 zu ersehen ist, lassen sich die unterschiedlich verminderten Aktivitäten der Plasmafaktore VIII, IX bzw. VIII und IX nicht den gleichen pathologischen Funktionstypen zuordnen.

In der Kurve zu Tabelle 8 wurden jeweils die beiden Untersuchungsergebnisse aller Untersuchungen der Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom den Normalwerten aus Tabelle 2 gegenübergestellt.



Tab 8

Wenn wir vorher diskutierten, daß die Zunahme der dynamischen Adhäsion in vitro bei Gesunden im Extravasalstatus ein "Alterungseffekt" sei, oder aber eine gewisse extravasale Zeit notwendig ist, bis sich die Oberfläche der Thrombocyten auf Grund abgelaufener Stoffwechselvorgänge so verändert hat, daß diese an Glas adhärieren, dann können wir aus den Befunden bei unseren Patienten folgendes zusammenfassen:

1. Bei einem Teil der Patienten tritt der "Alterungsvorgang", oder Anstoß des Stoffwechselgeschehens, das die Adhäsion bewirkt, unterschiedlich verzögert, bzw. später ein, so daß wir erst in den späteren Adhäsionswerten des Extravasalstatus eine normale Funktion der Thrombocyten finden. Diese Verzögerung kann jedoch ein solches Maß erreichen, daß sie nach unserer Methode nicht mehr nachweisbar ist. Die Gruppen I - IV kann man hier einreihen.

2. Bei dem anderen Teil der Patienten ist der "Alterungsvorgang", bzw. die stoffwechselbedingte Adhäsion normal in den Frühwerten des Extravasalstatus, jedoch vorzeitig erschöpft, so daß wir in den Spätwerten pathologische Adhäsionswerte finden, was für die Gruppen V - VII zutrifft.

3. In zwei Fällen der von uns untersuchten Patienten konnten wir eine pathologische dynamische Adhäsion in vitro nach unserer Methode nicht nachweisen, Gruppe VIII. Ob dies bei noch längerer Lagerung der Fall gewesen wäre, ist ungeklärt.

4. Warum jedoch bei einigen Patienten mit pathologischen Frühwerten diese nur im Citratblut und nicht auch im Nativblut pathologisch sind - Gruppe I und II - ist schwer zu deuten, wir können lediglich feststellen, daß uns das umgekehrte Phänomen nicht begegnet ist.

5. Daß wir nur in 2 Fällen, Gruppe IV und V, einen pathologischen Spätwert im Hellemfilter finden, obwohl 8 Fälle einen pathologischen Spätwert im Salzmannfilter haben, zeigt, daß es sich bei den von Salzmann beschriebenen Perlen zweifellos um einen feineren Indikator zur Diagnose einer pathologischen dynamischen Adhäsion in vitro handelt.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Bei den Untersuchungen im Teil A dieser Arbeit zur Methodik der dynamischen Adhäsion in vitro bei Gesunden mit normaler Blutungs- und Gerinnungszeit fanden wir erst durch die Verlängerung der Kontaktzeit und durch die Verwendung der von Salzmann beschriebenen Glasperlen eine Methode, die die bei unseren Untersuchungen festgestellte große Streubreite der Hellem'schen Methode stark reduzierte, so daß uns eine deutliche Aussage über die Abnahme der dynamischen Adhäsion in vitro möglich war.

Teil B behandelt die Abhängigkeit der dynamischen Adhäsion und Agglomeration von Thrombocyten in vitro bei Veränderung der physiologischen Zusammensetzung des Blutes und unter dem Einfluß verschiedener Substrate und der Temperatur.

1. Wir konnten auch für die dynamische Adhäsion in vitro eine Abhängigkeit von der Anzahl der Erythrocyten pro ccm nachweisen.

2. Eine Zunahme der dynamischen Adhäsion in vitro in erythrocytenfreiem Plasma durch Zugabe von ADP konnten wir nicht bestätigen, da im Leerwert Agglomerate auftraten, was als conditio sine qua non eine Adhäsionsbestimmung nach unserer Methode unserer Meinung nach nicht zuläßt.

3. Ab einer gewissen Konzentration läßt sich die Agglomeration in vitro von Thrombocyten durch Novocain verhindern.

4. Durch einen Kälteschock von $4^{o}C$ über 4 Stunden ließ sich eine dynamische Adhäsion in vitro in erythrocytenfreiem Plasma nachweisen, die bei Erwärmung auf Zimmertemperatur wieder abnahm.

5. Die dynamische Adhäsion in vitro ist deutlich abhängig vom Ca^{2++}-Ionengehalt des Blutes.

6. Ohne Fibrinogen findet keine Adhäsion statt, was wir in vivo:

   a. bei einer Patientin mit totaler Afibrinogenämie nachweisen konnten,

   b. bei Patienten, die mit Streptokinase behandelt wurden, wobei in diesem Fall die Abnahme der dynamischen Adhäsion auf dem Vorhandensein von Fibrinogen Degeneration Products beruhen kann.

   In vitro:

   Hier gelang der Nachweis durch Zugabe von Streptokinase zum Citratblut, wobei auch hier die Anwesenheit von Fibrinogen Degeneration Products diskutiert werden muß.

   Bei Zugabe von Fibrinogen (Behring Werke) in vitro zum Blut der Patientin mit totaler Afibrinogenämie stieg der Wert der dynamischen Adhäsion in vitro auf nahezu normale Werte.

   Gaben wir zum Citratblut normaler Personen zusätzlich Fibrinogen (Behring Werke), so konnten wir einen Anstieg der dynamischen Adhäsion in vitro nachweisen, wobei dieser Nachweis ab einer gewissen Konzentration durch das Auftreten von Agglomeraten nicht weiter möglich war.

7. Die Bestimmung der dynamischen Adhäsion in vitro bei Patienten mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom ergab, daß es für eine maximale Diagnostik unerläßlich ist, bei jedem Patienten mit Verdacht auf v. Willebrand Jürgens-Syndrom einen Extravasalstatus, sowie eine Nativblutadhäsionsbestimmung durchzuführen, um so die unterschiedlichen pathologischen Funktionstypen mit größter Wahrscheinlichkeit zu erfassen.

In dieser von uns aufgestellten Untersuchungsanordnung erscheint uns die Bestimmung der dynamischen Adhäsion in vitro als eine wertvolle zusätzliche Untersuchung zur Diagnose des v. Willebrand Jürgens-Syndrom.

8. Eine Zunahme der dynamischen Adhäsion in vitro bei einer Patientin mit v. Willebrand Jürgens-Syndrom durch Gabe von Cohn-Fraktion I konnten wir nach unserer Methode nicht nachweisen.

Literaturverzeichnis

1. Brügel, B.: "v. Willebrand Jürgens-Syndrom" Inaug. Diss. München 1966

2. Marx, R.: Fruhmann, G.: "Dominante, milde Hämophilie AB mit verlängerter Blutungszeit. Eine Untergruppe der Pseudohämophilien." Klin. Wsch. 36, 1109 (1958)

3. Schulz, H. Jürgens, R. Hiepler, E.: "Die Ultrastruktur der Thrombocyten bei der konstitutionellen Thrombopathie (v. W. J.), mit einem Beitrag zur submikroskopischen Orthologie der Thrombocyten." Throm. et Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 2, 300 (1959)

4. Derlath, S.: "Die direkte phasenoptische Thrombocyten- und Retikulocytenzählung." Ärztliche Forschung 10, 552 (1955)

5. Marcus, A. J. Zucker, M. B.: "The Physiologie of Blood Platelets", Grune + Stratton. Inc. New York and London 1965, pp. 45 - 46

6. Ibrom, H. J.: "Zur quantitativen Erfassung der extravasalen Metamorphose und zur Färbung oberflächenadhärenter Thrombocyten." Inaug. Diss. München 1962

7. Wright, H. P.: Journ. Path. Bact. 53, 255 (1941)

8. Marx, R. Derlath, S.: "Über eine Methode zur vergleichenden quantitativen Bestimmung der Thrombocytenadhäsivität." Zeitschr. Blut, Bd. 3, 247 (1957)

9. Hellem, A. J.: "The Adhesiviness of Human Blood Platelets in Vitro." Oslo University Press 1960

10. Salzmann, E. W.: "Measurement of Platelet Adhesivines. A simple in vitro technique demonstrating an abnormality in v. Willebrand's disease." 7. Lab. a. Clin. Med. 62, 724 - 735 (1963)

11. Borchgrevink, C. F.: "A Method for measuring Platelet Adhesiviness in vivo." Acta. Med. Scand. 168 : 157, 1960

12. Marx, R.: Lenz: Mündliche Mitteilung von R. Marx über eine unveröffentlichte Arbeit von Lenz

13. Borchgrevink, C. F.: "Platelet Adhesion In Vivo in Patients with Bleeding Disorders." Acta. Med. Scand. 170 : 231 (1961)

14. Muckle, T. J.: "Low In Vivo Adhesive-Platelet Count in hereditary Haemorrhagic Teleangiektasia." The Lancet October 1964 pp 880 - 881

15. Schweighart, E.: "Studien über Thrombocytenagglutination und Thrombocytenagglutinations-Tendenz." Inaug. Diss. München 1957

16. Vainer, H. Caen, J. P.: "A useful photometric test for the diagnosis of v. Willebrand's disease." J. clin. Path. 17 : 191 (1964)

17. Marx, R.: "Über die Bedeutung des Begriffes der Korrelationsstörungen innerhalb des Blutgerinnungssystems für das Verständnis einiger hämorrhagischer und thrombophiler Diathesen." Ac. Forsch. 2 : 413 (1948)

18. Hubrich, J.: "Modellversuch zur Pathogenese der Thrombose vom Gesichtspunkt der Thrombocytenadhäsion." Inaug. Diss. München 1958

19. Hellem, A. J.: Proceed. VIIth Congress Internat. Soc. Hematol. 2nd Vol. Il Pensioere Scientifico, Roma 1958

20. Köhl, E.: "Untersuchungen über die Thrombocyten-Adhäsion, vergleichend mit der Kapillar- und Kolbenmethode." Inaug. Diss. München 1960

21. Marx, R.: "Über den Einfluß der Erythrocyten auf die Thrombocytenadhäsion und Agglomeration." Fol. haematol. N. F. 622 (1961)

22. Øllgard, E.: "Clot retraction as a quantitative test of the function and agglomeration of the blood platelets." Acta. haematol. 6 : 220 (1951)

23. Gaarder, A.:
Jonsen, J.
Laland, S.
Hellem, A. J.
Owren, P.A. "Adenosine diphosphat in red cells as a factor in the adhesiviness of human platelets." Nature (Lond) 192 : 531 (1961)

24. Hovig, T. confer: Owren, P. A. "Physiopathologie du temps de saignement." Nouv. Rev. franç. Hématol. 3 : 280 (1963)

25. Hellem, A. J.: "Persönliche Mitteilung an Marx, R. im Oktober 1963"

26. Born, G. V. R.: "Effect of Adenosine diphosphat on the Concentration of Platelets in Circulating Blood." Nature, 197, 974, 1963

27. Kerby, G. P.: Taylor, S. M. "The Role of Human Platelets and Plasma in the Metabolism of Adenosine diphosphat and Monophosphat Added in vitro." Throm. et Diathes. meamorrh. Vol. XII Nr. 314, 510, 1964

28. Evertz, K.: "Thrombocytenagglomeration unter der Wirkung von Glykolysemetaboliten unter besonderer Berücksichtigung des Myotoxinschocks." Inaug. Diss. München 1966

29. Marr, J.: Barboriak, J. J. Johnson, S. A. "Relationship of Appearance of Adenosine diphosphat, Fibrin formation and Plateletaggregation in the Haemostatic plug in Vivo." Nature, Vol. 205, No. 4968, pp 259 - 262 January 16, 1965

30. Ödegaard, A. E.: Skålhegg, B. A. Hellem, A. J. "Investigation on Adenosine diphosphat (ADP) induced Platelet adhesiviness in Vitro. Part III. The Inactvation of ADP in Plasma." Throm. et Diates. heamorrh. Vol. XI 1964

31. Kreiter, H. "Das Thrombocytenmetamorphogramm. Evolution und Adhäsion von Thrombocyten unter Einwirkung gerinnungshemmender Substanzen, sowie bei hämorrhagischer Diathese." Inaug. Diss. München 1958

32. Nilsson, J. M.: Blomback, M. Jorpes, E. Johanson, S. A. "v. Willebrand's Disease and its Correction with Human Plasma Factor 1 - 0." Acta Med. Scand. 159, 179, 1957

33. Hovig, T.: "The effect of Calcium and Magnesium on Rabbit Blood Platelets Aggregation in vitro." Throm. et Diathes. haemorrh. Vol. XII, 1964

34. Skålhegg, B. A.: Hellem, A. J. Ödegaard, A. E. "Investigation on Adenosine diphosphat (ADP) Induced Platelet Adhesiviness in Vitro. Part II. Studies on the mechanism." Throm. et Diathes. haemorrh. Vol XI, 1964

35. Roeber, G.: "Beitrag zur Methodik der Thrombocytenadhäsionsbestimmung im Citratblut." Inaug. Diss. München 1963

36. Kowalski, E.: Kopeć, M. Wegrzynowicz, Z. "Influenz of Fibrinogen Degeneration Products (FDP) on Platelet Aggregation Adhesiviness and Viscous Metamorphosis." Throm. et Diathes. haemorrh. Vol X 1964

37. Widmer, K.: "Studien zur Beurteilung der Thrombocytenfunktionen, Adhäsion, Evolution und Agglutination in vitro." Inaug. Diss. München 1967

38. Gugler, E.: Lüscher, E. F. "Platelet Function in Congenital Afibrinogenaemie." Thromb. et Diathes. haemorrh. Vol XIV, 1965

39. Marx, R.: Ressel, M.: Conf. Ressel, M. "Beitrag zur Methodik der Blutungszeitbestimmung und Studien über die Angiopathia diabetika unter besondere Berücksichtigung der Blutungszeit." Inaug. Diss. 1957

40. Lee, R. W.: White, P. D. "Clinical study of the coagulation time of blood." Am. J. Med. Sc. 145, 495 (1913)

41. Hartert, H.: "Klinische Blutgerinnungsstörungen mit der Thrombelastographie. Physiologische und methodische Grundlagen der Thrombelastographie." Dtsch. Arch. Klin. Med. 119, 384 (1952)

42. Marx, R.: Bayerle, H. "Über ein Zweistufenverfahren zur Bestimmung von Prothrombin in Blut und Plasma." Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 283, 248 (1949)

43. Biggs, R.: Douglas, A. S. "Thromboplastingeneration test." I. clin. Path. 6. 23 (1953)

44. Borchgrevink, C. F.: "The effect of plasma and Cohn's fraction on the Duke and Ivy bleeding times in v. Willebrand's disease."
Egberg, O.
Godal, H. C.
Hjort, P. F.
Acta med. Scand. 173, 235 (1963)

45. Lüscher, E. F.: "Platelet aggregation, agglutination, adhäsion and viscous metamorphosis."
Thromb. et Diath. Haemorrh. 13 (Sept): 297, 1964

46. Marx, R.: "Mündliche Mitteilung"

Herrn Prof. Dr. R. Marx danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die liebenswürdige Bereitschaft, mir bei allen auftretenden Fragen und Problemen mit Anregungen und Ideen zur Seite zu stehen.

Vor allem aber für seine wertvollen Hinweise bei aller Spezialisierung der Untersuchungen und deren Deutung, nie die komplexen klinischen Zusammenhänge aus den Augen zu verlieren.

Frau A. Meisner gilt mein Dank für die geduldige Unterweisung in der Labortechnik,

ebenso Fräulein Dr. med. M. Weinzierl, die mir oft bei der Durchführung der Untersuchungen geholfen hat.

Durchführung der Arbeit:

Januar 1964 - Juli 1965

September 1966 - Juli 1967

Lebenslauf

Am 6. November 1938 wurde ich, Klaus Grosspeter als Sohn de Fabrikanten Carl Ludwig Grosspeter und seiner Ehefrau Maria Grosspeter, geb. Bender, in Marktredwitz/Opf. geboren.

Von 1945 - 1949 besuchte ich die Volksschule Großkönigsdorf bei Köln und nach bestandener Aufnahmeprüfung das Humanist sche Gymnasium Bergheim Erft. bis 1952.

Anschließend von 1952 - 1957 war ich Schüler der Freien-Wa dorfschule Benefeld bei Walsrode in der Lüneburger Heide. Diese Zeit war unterbrochen durch einen einjährigen Aufent halt an der Freien Waldorfschule Michael-Hall in England.

In den beiden letzten Schuljahren von 1957 - 1959 besuchte ich die Freie Waldorfschule Hannover, wo ich im März 1959 die Reifeprüfung bestand.

Von 1959 - 1960 war ich Soldat bei der deutschen Bundesweh

1960 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Univers tät Köln, wo ich 1963 das Physikum bestand.

Die klinischen Semester von 1963 - 1966 studierte ich an d Universität München, wo ich im Juni 1966 das Staatsexamen absolvierte.

Seit Oktober 1966 bin ich Medizinalassistent an der 1. Med zinischen Universitäts-Klinik in München.